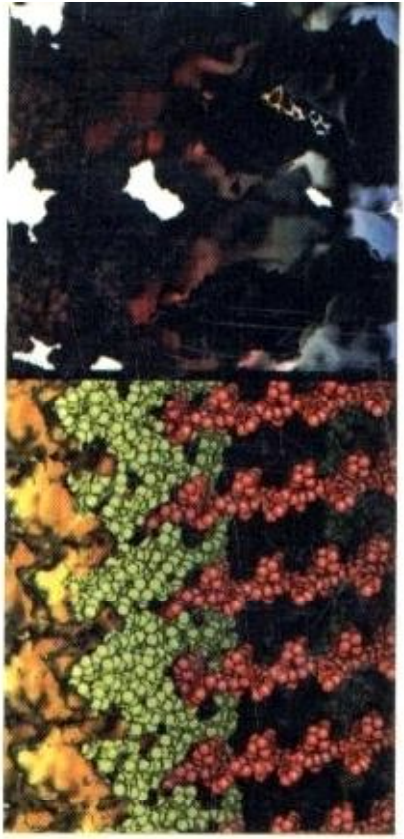
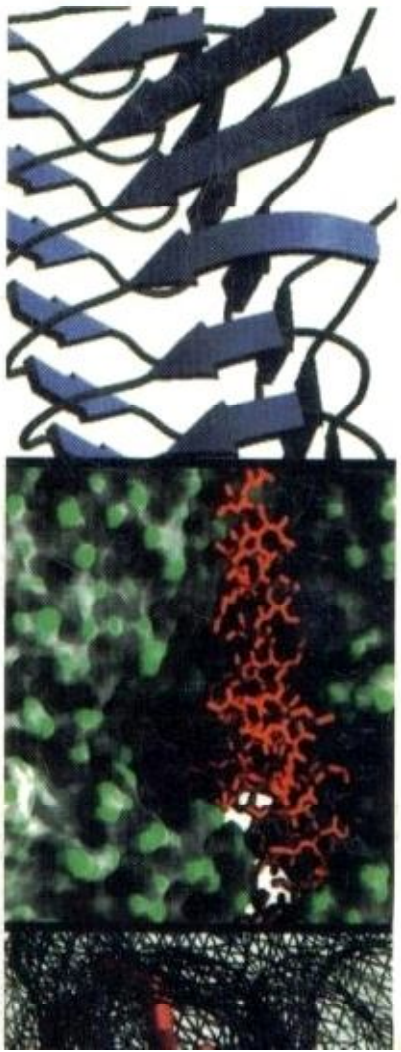


TERCEIRA EDIÇÃO

Lehninger Princípios de Bioquímica



David L. Nelson
Michael M. Cox

Título original
Lehninger Principles of Biochemistry Third Edition
David L. Nelson and Michael M. Cox

First published in the United States
by
W.H. FREEMAN AND COMPANY, New York, New York and Basingstoke
Copyright 2000 by Worth Publishers, Inc.
All rights reserved

Lehninger Princípios de Bioquímica
Terceira edição, agosto de 2002
Direitos reservados para a língua portuguesa

Coordenação da tradução
Arnaldo Antonio Simões
Wilson Roberto Navega Lodi

Projeto Gráfico
CLR Balieiro Editores

Impressão/Acabamento
RR Donnelley

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Lehninger, Albert Lester, 1917-1986.
Lehninger princípios de bioquímica / David L. Nelson, Michael M. Cox ; traduzido por Arnaldo Antonio Simões, Wilson Roberto Navega Lodi. -- 3. ed. -- São Paulo 2002.

Título original: Lehninger principles of biochemistry
Bibliografia.
ISBN 85-7378-125-4

1. Bioquímica I. Nelson, David L. II. Cox, Michael M. III. Título.

02-3820 CDD-574.192

Índices para catálogo sistemático:
1. Bioquímica 574.192

Lehninger
Princípios de Bioquímica

David L. Nelson
Professor de Bioquímica
Universidade de Wisconsin–Madison

Michael M. Cox
Professor de Bioquímica
Universidade de Wisconsin–Madison

Coordenação da tradução

Arnaldo Antonio Simões
Médico, Doutor em Bioquímica
Departamento de Bioquímica e Imunologia
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

Wilson Roberto Navega Lodi
Médico, Professor Associado
Departamento de Bioquímica e Imunologia
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

Prefácio

Lehninger Princípios de Bioquímica, terceira edição, é uma introdução a nosso assunto favorito — e nosso esforço em torná-lo seu. Ele foi planejado para cursos de um-dois semestres para estudantes com interesse principal em bioquímica e disciplinas relacionadas, bem como para estudantes de graduação que requeiram uma introdução mais extensa à bioquímica, e para estudantes nos programas de medicina, odontologia, veterinária e farmácia. Ao revisá-lo, fomos encorajados e ajudados por comentários úteis de muitos estudantes e professores ao redor do mundo que usaram a segunda edição de nosso livro em uma das muitas línguas em que ele foi publicado.

página 212

A bioquímica sofreu profundas alterações desde a última edição (1993) do livro. A terceira edição reflete essas alterações. Cada capítulo foi revisto. Há capítulos novos e inteiramente reorganizados, tópicos novos ou muito expandidos que cobrem áreas de progresso recente, e muitas ilustrações novas, incluindo um programa de gráficos moleculares inteiramente novo. Juntos, eles perfazem mais de um milhar de ilustrações coloridas (diagramas, fotos, gráficos moleculares) nesta edição. Entretanto, nossa ambição nesta nova edição se estende bem além de uma simples atualização. Empregamos pelo menos o mesmo esforço em melhorar a nossa fundamentação.

Capítulos novos e reorganizados, tópicos novos ou ampliados cobrindo o progresso recente, programa inteiramente novo de gráficos

Alterações na Nova Edição: Conteúdo Revisado, Refinado e Atualizado

A terceira edição evoluiu gradualmente durante aqueles raros momentos calmos em nossos escritórios, em passeios ao lago Mendotta, em longas viagens de avião ao redor do mundo, em intervalos durante os jogos de futebol americano do Badger, em conversações com colegas, durante tardes "livres" em encontros científicos. Evolução não é revolução. Enquanto alterávamos o conteúdo extensivamente, nosso objetivo era manter as excelentes qualidades que levaram muitos usuários a amar os livros de Albert Lehninger desde a primeira edição de *Bioquímica* lançada trinta anos atrás: prosa clara e boas ilustrações, organização e desenvolvimento lógico das matérias, questões de estudo desafiadoras. A organização do livro permanece fiel a uma ordem de apresentação que consistentemente tem se provado bem-sucedida por múltiplas edições deste livro, e que agora é familiar aos instrutores e estudantes de todo o mundo. A Parte I fornece uma série de fundamentos e capítulos introdutórios. A Parte II introduz as principais classes de moléculas nas células vivas. O metabolismo intermediário é apresentado na Parte III. O livro termina com uma discussão sobre as vias da informação na Parte IV.

Mantém a tradição dos admirados livros-texto de Albert Lehninger

Entretanto, há algumas mudanças notáveis. Uma é a cobertura das proteínas e enzimas nos Capítulos 5-8. Os Capítulos 5 e 6 da segunda edição foram fundidos em um novo e atual Capítulo 5, que agora introduz as proteínas e alguns dos mais importantes métodos usados para analisá-las. O Capítulo 6 é uma apresentação inteiramente revisada da estrutura, enovelamento e desnaturação das proteínas. O Capítulo 7 focaliza as funções das proteínas. Desenvolvidos a partir de um suplemento publicado para a segunda edição, estes novos capítulos exibem um tratamento expandido dos princípios subjacentes à ligação reversível de ligantes a proteínas, com uma discussão atualizada sobre a função da mioglobina, hemoglobina, imunoglobulinas e músculo. O Capítulo 8, que focaliza a função das enzimas, foi também extensamente revisado e atualizado.

Os antigos Capítulos 5 e 6 foram fundidos em um novo e atual Capítulo 5

Estrutura, enovelamento e desnaturação no Capítulo 6

Novo Capítulo 7 sobre as funções das proteínas

Novo capítulo sobre a biossinalização analisa um dos mais ativos campos de pesquisa da atualidade

Seguindo um capítulo sobre membranas e transporte, um novo capítulo (Capítulo 13; Biossinalização) cobre uma das áreas mais ativas da pesquisa atual em bioquímica: as transduções de sinais pelas quais as células detectam e respondem a sinais externos como hormônios, neurotransmissores, fatores de crescimento e estímulos ambientais. Esse capítulo enfatiza as propriedades universais dos receptores e os mecanismos de transdução, incluindo aqueles para a visão, olfato e gustação dos vertebrados. O capítulo descreve também os mecanismos que regulam o ciclo celular e detalha os efeitos das proteínas regulatórias alteradas, codificadas em oncogenes e genes supressores de tumores. Finalmente, o capítulo de biossinalização fornece a ponte entre a estrutura biomolecular e a próxima parte do livro, o metabolismo intermediário.

Fosforilação oxidativa inteiramente revisada, incluindo o admirável mecanismo da ATP sintase

Os capítulos na Parte III (Bioenergética e Metabolismo) foram atualizados para incorporar os novos desenvolvimentos na regulação metabólica, na estrutura das enzimas e dos complexos enzimáticos, e novos exemplos de doenças humanas que resultam do metabolismo defeituoso. O capítulo sobre a fosforilação oxidativa e a fotofosforilação (Capítulo 19) foi inteiramente retrabalhado e agora inclui a informação recente sobre a estrutura dos complexos enzimáticos ligados às membranas e o admirável mecanismo da ATP sintase. Também usamos, nesse capítulo e em todo o livro, a estequiometria largamente aceita para a produção de ATP na fosforilação oxidativa — de 2,5 ATP, por par de elétrons, a partir do NADH e 1,5 ATP a partir do $FADH_2$.

Revisão extensa das vias de informação

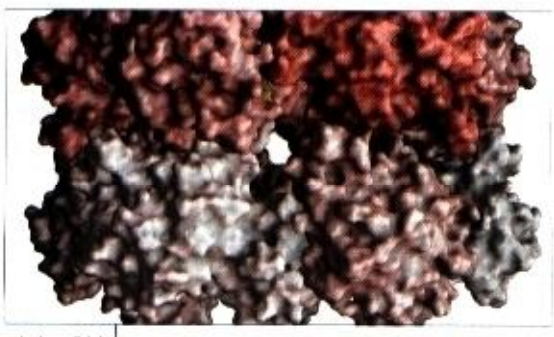
Os capítulos sobre as vias de informação, na Parte IV, foram sistematicamente revisados para refletir o rápido ritmo do avanço em muitas das áreas de pesquisa cobertas e para melhorar a ordem e o fluxo da apresentação. Poucas áreas ficaram intocadas. Os destaques incluem uma nova apresentação do metabolismo do DNA, que inclui uma lista de discernimentos experimentais recentes, a cobertura expandida e atualizada da transcrição eucariótica e da regulação da expressão dos genes, as descrições de novas informações concernentes à síntese de proteínas e à distribuição das proteínas, e uma atualização da tecnologia coberta no capítulo final.

Uma Visão Mais Detalhada dos Métodos Experimentais

Novo material sobre NMR, SELEX, microarranjos de DNA e outros importantes métodos

Uma compreensão da bioquímica moderna é impossível sem uma introdução aos métodos experimentais que tornaram possível cada avanço principal. Consideramos a metodologia tão intrínseca aos resultados que entrelaçamos descrições de muitas dessas importantes técnicas na apresentação dos conceitos e princípios que elas revelaram. Há novos tópicos sobre métodos como NMR, espectrometria de massa, SELEX e microarranjos de DNA. As apresentações da cristalografia de raios X, do seqüenciamento de proteínas e DNA, de métodos de hibridização, síntese de peptídeos e ácidos nucléicos, purificação de proteínas, PCR e de muitos outros métodos foram melhoradas e atualizadas. Uma lista completa dos métodos experimentais descritos neste livro pode ser encontrada no índice remissivo, sob o título "Técnicas".

Novo Trabalho de Arte Pedagógico



A diferença mais imediatamente visível entre esta e a edição anterior é a de muitas ilustrações novas de estruturas macromoleculares geradas por Jean-Yves Sgro, biofísico e mestre de gráficos moleculares. Apoiados no encosto de braços da sua cadeira por muitas, muitas horas na frente do seu computador, descrevemos o que gostaríamos de ver e Jean-Yves conseguia mais do que esperávamos. Sgro tem sido nosso valioso parceiro nessa revisão, produzindo imagens claras e bonitas que estão intimamente coordenadas com o texto e a arte. As mais de 200 imagens gráficas moleculares são todas novas, originais e exclusivas para este livro. Nossa habilidade em ilustrar os princípios bioquímicos com estruturas conhecidas foi muito aumentada pelas dramáticas melhorias nos métodos de resolução das estruturas ma-

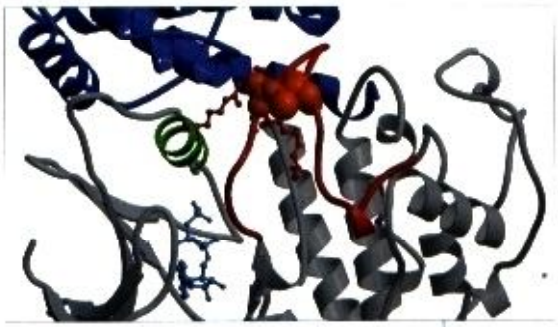
cromoleculares por cristalografia de raios X e espectroscopia de ressonância nuclear magnética. Os últimos anos de pesquisa em biologia estrutural produziram uma profusão de estruturas de proteínas e ácidos nucléicos, ricas em detalhes moleculares. O progresso é claramente aparente quando a presente edição é comparada com a primeira edição (1970) de *Bioquímica* de Lehninger, que exibia um desenho de apenas uma proteína (mioglobina) com detalhe molecular.

Todos os gráficos e diagramas moleculares seguem um esquema de cores consistente ao longo do texto

Ênfase na Fundamentação

Para ajudar os estudantes a navegar o oceano de informação em bioquímica, escrevemos com estes objetivos:

- introduzir a linguagem da bioquímica, com explanações cuidadosas sobre a idéia, a origem e o significado dos termos;
- providenciar uma compreensão equilibrada do contexto físico, químico e biológico no qual cada biomolécula, reação ou via metabólica opera;
- enfatizar, clara e repetidamente, os principais temas, especialmente aqueles relacionados à evolução, à termodinâmica, à regulação e à relação entre estrutura e função;
- explicar e contextualizar as mais importantes técnicas que nos trouxeram a compreensão atual da bioquímica; e
- manter o interesse do estudante, desenvolvendo tópicos de uma maneira gradual e lógica; aproveitando cada oportunidade para apontar conexões entre processos; identificando lacunas em nosso conhecimento que prometam desafiar futuras gerações de cientistas; suprindo o contexto histórico da seleção das principais descobertas, quando tal contexto for útil; e fornecendo em cada capítulo problemas desafiadores que requeiram do estudante trabalhar com dados ou situações reais.



página 470

As quatro partes de *Lehninger Princípios de Bioquímica*, em sua terceira edição, foram planejadas com esses objetivos em mente. Temas que unificam grupos de capítulos foram introduzidos na abertura de cada parte e reforçam os capítulos individuais. A organização dos capítulos ajudará os estudantes a manter o foco nos temas principais e na informação essencial e, assim, aumentará a compreensão do estudante. Escrevemos introduções para cada capítulo que permitem uma auto-suficiência, de forma tal que um instrutor, ao utilizar este livro, não seja obrigado a ministrar seu curso na seqüência exata do livro. Isso é especialmente verdadeiro para os capítulos intermediários sobre o metabolismo, em que existe uma variação considerável na seqüência usada por diferentes professores.

Os apêndices incluem uma extensa lista de abreviações encontradas na literatura bioquímica e soluções para os problemas do final de cada capítulo. O Glossário foi revisto e ampliado para fornecer definições de mais de 800 termos importantes.

Ao apresentar esta nova edição de *Princípios de Bioquímica*, receberemos com prazer suas críticas, sugestões e comentários de qualquer espécie.

Novos Adendos e Problemas com Aplicações Práticas

Para encorajar os estudantes a ir mais fundo nas aplicações e implicações da pesquisa bioquímica, esta edição apresenta:

- Um maior número de adendos sobre a relevância da bioquímica na medicina, biotecnologia e outros aspectos da vida diária.
- Novos problemas nos términos de cada capítulo, que desafiam os estudantes a aplicar os princípios bioquímicos a questões do mundo real.
- Problemas da *Bioquímica na internet*, que colocam questões e apresentam estratégias para o encontro de respostas usando as fontes bioquímicas na World Wide Web.

David L. Nelson
Michael M. Cox

Notas da Terceira Edição Portuguesa

Há vinte anos, em 1982, ocorreu a primeira edição de *Principles of Biochemistry* do Professor Albert Lester Lehninger que em pouco tempo ganhou a prestigiada condição de paradigma didático e texto de referência no ensino de Bioquímica. Pouco depois, em 1984, apresentamos a tradução para a língua portuguesa e ficamos felizes em verificar que, em seu âmbito, ela se manteve dentro da mesma condição. A continuidade desta obra foi mantida com a segunda edição na língua inglesa em 1993 e a nossa tradução dela em 1995. Nestes últimos anos ocorreu um espantoso crescimento do saber científico e em nenhuma área isso foi tão evidente como na Biologia. Nesta, as aplicações práticas vêm sendo implantadas acompanhando passo a passo os avanços desse saber principalmente nos setores da medicina humana e veterinária, na agricultura e na nutrição, na produção industrial de drogas farmacêuticas e de outros empregos, além de miríades de outros. Esse progresso implica a criação de termos novos, muitas vezes descritivos de funções de moléculas, de procedimentos laboratoriais, de características morfológicas celulares ou subcelulares... Quase invariavelmente esses termos inovadores nascem grafados no idioma inglês e não raro sua tradução e adaptação ao nosso idioma representam um problema com múltiplas escolhas. Assim, nesta edição, como nas anteriores, seguimos como normas orientadoras, mas não estritas: primeiro, sempre privilegiar o texto e o estilo com mais fácil acesso à compreensão do estudante de graduação, isto é, aquela pessoa que está realizando o seu primeiro contato com a Bioquímica por meio deste livro; segundo grafar a tradução dessas palavras novas na forma mais empregada pelos próprios bioquímicos na vivência diária dentro dos laboratórios, nas aulas de graduação e pós-graduação, nas conferências, durante as apresentações e conversas nos congressos, em trabalhos publicados em português e outras diferentes situações. Entretanto, as siglas foram mantidas como são grafadas em sua forma original pois a mudança para a forma correspondente ao português acarretaria grandes e inúteis dificuldades ao estudante quando da leitura de outros trabalhos em inglês. Pelo uso freqüente e disseminado, algumas siglas novas sobreviverão e serão incorporadas à nossa língua, outras serão esquecidas. Ao prepararmos a terceira edição portuguesa de *Lehninger Princípios de Bioquímica* ampliamos a equipe de tradutores o que tornou ainda mais seguro e preciso o texto ora apresentado, sem perda das qualidades características do anterior. Apesar dos cuidados, atenção e carinho empregados na elaboração e revisão deste texto, acreditamos que correções podem ser necessárias e receber dos nossos leitores a advertência para aquelas que forem notadas será uma distinção pela qual agradecemos desde agora.

Tradução

Arnaldo Antonio Simões
(Capítulos 15, 16, 17, 18, 20, 21 e 22)
Professor Aposentado
FMRP-USP

Carlos Curti
(Capítulo 14)
Professor Associado
FCFRP-USP

Carem Gledes Vargas Rechia
(Capítulo 9)
Professora Doutora
FCFRP-USP

Francisco de Assis Leone
(Capítulos 4, 8 e 19)
Professor Titular
FFCLRP-USP

Ísis do Carmo Kettelhut
(Capítulo 23)
Professora Associada
FMRP-USP

Ithamar Vugman
(Capítulo 7)
Professor Titular Aposentado
FMRP-USP

Vanderlei Rodrigues
(Capítulos 2 e 29)
Professor Associado
FMRP-USP

Vitor Diaz Galban
(Capítulos 5 e 6)
Doutor em Bioquímica pela FMRP-USP
FMRP-USP

Yara Maria Lucisano Valim
(Capítulos 1 e 3)
Professora Associada
FCFRP-USP

Zuleica Rotschield
(Capítulo 11)
Professora Titular Aposentada
FCFRP-USP

Wilson Roberto Navega Lodi
(Capítulos 12, 13, 24, 25, 26, 27 e 28)
Professor Associado
FMRP-USP

Ferramentas e Técnicas

O texto descreve muitas técnicas usadas na pesquisa bioquímica, a maioria das quais está misturada com os resultados de sua aplicação. Entre as técnicas descritas neste livro estão:

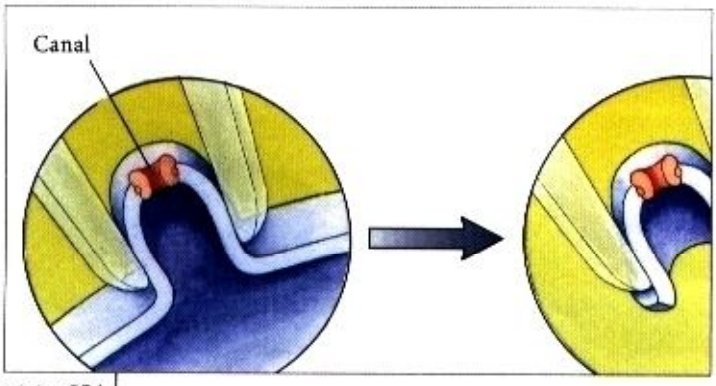
O trabalho com células e animais

Escolha do organismo experimental 17-18
Centrifugação diferencial no isolamento das organelas subcelulares 32-33
Ultracentrifugação isopícnica no fracionamento celular 32, 33
Produção de animais transgênicos 903
Teste de Ames para a mutagenicidade 747

O trabalho com polipeptídeos e proteínas

Separação cromatográfica de proteínas: afinidade, troca iônica, filtração em gel (exclusão pelo tamanho), HPLC 100-103
Cinética enzimática para determinar K_m, $V_{máx}$, 198-207, Adendo 8-1, 215-216
Quantificação da cooperatividade na ligação do ligante: diagrama de Hill 168
Análise de Scatchard da interação ligante-proteína, 342, Adendo 13-1
Eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS (SDS-PAGE) 103
Focalização isoelétrica de proteínas 104-105
Eletroforese de mistura de proteínas em géis de duas dimensões 104-105
Transferência de proteínas para uma membrana, identificadas com anticorpo ("immunoblotting", "Western blotting") 179-180
ELISA ("*enzyme-linked immunosorbent assay*", ou ensaio imunocomplexo ligado à enzima) 179-180
Radioimunoensaio (RIA) 694, 696
Seqüenciamento de proteínas pela degradação de Edman 109-112
Espectrometria de massa (MS/MS), 113-115, Adendo 5-3
- espectrometria de massa por dessorção/ionização assistida por uma matriz (MALDI MS) 113
- espectrometria de massa por ionização e eletropulverização (ESI MS) 113
- espectrometria de massa seqüencial 114-115

Síntese química de peptídeos 116-117



O trabalho com DNA e RNA

Síntese química de oligonucleotídeos 273
SELEX ("*systematic evolution of ligands by exponential enrichment*", ou desenvolvimento sistemático de ligantes por enriquecimento exponencial) 801
Cortando e ligando DNA 882-884
Construção de vetores de clonagem e expressão 886-887
Clonando cromossomos bacterianos artificiais (BACs) 887
Clonando longos segmentos de DNA em cromossomos de fungos artificiais (YACs) 894, 896
Plasmídio Ti como vetor de clonagem em plantas 898-900
Hibridização de colônias 888, 892
PCR ("*polymerase chain reaction*, ou reação em cadeia da polimerase) para amplificar uma seqüência de DNA 887-889
Microarranjos de DNA 711-712, 888, 893
Seqüenciamento de DNA 271-273
Superexpressão de genes clonados 893
Impressão digital ou perfil de DNA 890-891
Impressão digital de DNA para identificar sítios de ligação de proteínas no DNA 775
Mutagênese sítio-dirigida 894-895
Análise do polimorfismo de restrição de tamanhos dos fragmentos (RFLP — "*restriction fragment length polymorphism analysis*"), 890, Adendo 29-1
Transferência e identificação de DNA em membranas, 890-891, Adendo 29-1
Terapia gênica humana, 897-898, Adendo 29-2, 902-903

O trabalho com carboidratos, lipídios e membranas

Extração de lipídios com solventes orgânicos 295-296
Análise de lipídios por cromatografia líquida gasosa (GLC) e cromatografia de camada fina (TLC) 296, 297
Determinação da estrutura de lipídios por espectrometria de massa 298
Análise de oligossacarídeos e polissacarídeos 243-245
Eletromicroscopia por criofratura de membranas, 307, Adendo 12-1
Determinação da assimetria de membrana com sondas impermeáveis 307-308
Eletrofisiologia do pinçamento da membrana para estudar canais iônicos 334
Análise de hidropatia para detectar segmentos transmembrana 311-313

As técnicas físicas para a determinação de estruturas

Determinação da estrutura protéica terciária por
- cristalografia de raios X, 138-139, Adendo 6-3
- espectropia de ressonância magnética nuclear, 139-141, Adendo 6-3

Espectrometria UV/visível e a lei de Lambert-Beer, 93, Adendo 5-1
Determinação experimental do potencial de redução 400, 401

Aplicações e Explanações nos Adendos

Os adendos exibidos ao longo do texto fornecem informação suplementar sobre aplicações da bioquímica, explanações de fenômenos biológicos fascinantes e outros tipos de enriquecimento aos estudantes. Aplicações adicionais da bioquímica relacionadas à saúde e à doença, ao meio ambiente, indústria, agricultura e outros campos aparecem ao longo das páginas deste livro.

- Adendo 3-1 Louis Pasteur e a atividade óptica: *in vino, veritas* 47
- Adendo 4-1 Resposta ao toque nas plantas: um evento osmótico 73
- Adendo 4-2 O produto iônico da água: dois problemas ilustrativos 75
- Adendo 4-3 Resolvendo problemas usando a equação de Henderson-Hasselbach 79
- Adendo 4-4 Sangue, pulmões e tampão: o sistema-tampão bicarbonato 80
- Adendo 5-1 Absorção da luz pelas moléculas: a lei de Lambert-Beer 93
- Adendo 5-2 Homologia de proteínas entre as espécies 107
- Adendo 5-3 Investigando proteínas com a espectrometria de massa 113
- Adendo 6-1 Identificando hélices orientadas à direita e à esquerda 127
- Adendo 6-2 A ondulação permanente em cabelos é uma engenharia bioquímica 133
- Adendo 6-3 Métodos para a determinação da estrutura tridimensional de uma proteína 138
- Adendo 6-4 A morte por enovelamento incorreto: a doença do príon 153
- Adendo 8-1 Transformações da equação de Michaelis-Menten: o gráfico dos duplos recíprocos 201
- Adendo 8-2 Testes cinéticos para a determinação dos mecanismos de inibição 206
- Adendo 8-3 Evidências da complementaridade entre a enzima e o estado de transição 208
- Adendo 11-1 Os cachalotes: cabeças de sebo das profundezas 283
- Adendo 11-2 Doenças humanas herdadas resultam do acúmulo anormal de lipídios de membrana 290
- Adendo 12-1 Observando as membranas 307
- Adendo 12-2 Transporte defeituoso da glicose e da água em duas formas de diabetes 321
- Adendo 12-3 Um canal iônico defeituoso causa a fibrose cística 326
- Adendo 13-1 A análise de Scatchard quantifica a interação receptor-ligante 342
- Adendo 13-2 Cegueira às cores: o experimento de John Dalton direto do túmulo 361
- Adendo 14-1 Entropia: as vantagens de haver desorganização 385
- Adendo 14-2 A energia livre de hidrólise do ATP no interior das células: o verdadeiro custo dos negócios metabólicos 390
- Adendo 14-3 O relampear dos vaga-lumes: relatos brilhantes do ATP 396
- Adendo 15-1 Glicólise na presença de concentrações limitantes de oxigênio: atletas, jacarés e celacantos 421
- Adendo 15-2 A fabricação de cerveja 422
- Adendo 15-3 Isoenzimas: proteínas diferentes que catalisam a mesma reação 431
- Adendo 15-4 Deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase: por que Pitágoras não comia falafel 434
- Adendo 16-1 Sintases e sintetases; ligases e liases; quinases, fosfatases e fosforilases: Ufa!, Tantos nomes realmente confundem! 448
- Adendo 16-2 Citrato: uma molécula simétrica que reage assimetricamente 451
- Adendo 16-3 Citrato sintase, refrigerantes e o suprimento de alimentos para o mundo 454
- Adendo 17-1 Os ursos obesos realizam a β-oxidação durante seu período de hibernação 472
- Adendo 17-2 Coenzima B_{12}: uma solução radical para um problema desconcertante 475
- Adendo 18-1 Ensaios para o diagnóstico de lesões de tecidos 462
- Adendo 18-2 Detetives científicos resolvem um assassinato misterioso 509
- Adendo 19-1 Vias respiratórias alternativas e calor, plantas malcheirosas 527
- Adendo 20-1 A penicilina e a β-lactamase: a bala mágica contra o colete à prova de balas 580
- Adendo 21-1 Oxidases de função mista, oxigenases e citocromo P-450 610
- Adendo 21-2 Cicloxigenases isozimas e a pesquisa por uma aspirina melhor: o alívio está no sítio ativo 614
- Adendo 21-3 Os alelos da apolipoproteína E predizem a incidência da doença de Alzheimer 630
- Adendo 22-1 Bioquímica de reis e de vampiros 659
- Adendo 22-2 Curando a doença do sono africana com um "cavalo de Tróia" bioquímico 664
- Adendo 23-1 Como um hormônio é descoberto? O árduo caminho na purificação da insulina 695
- Adendo 25-1 Reparo do DNA e câncer 750
- Adendo 26-1 A RNA polimerase deixa a sua pegada em um promotor 775
- Adendo 26-2 Lutando contra a AIDS com inibidores da transcriptase reversa do HIV 796
- Adendo 27-1 Deslocamento da janela de tradução e editoração do RNA: mRNAs que mudam as regras no meio do jogo 810
- Adendo 27-2 Variações naturais no código genético 814
- Adendo 27-3 Variação induzida no código genético: supressão sem sentido 829
- Adendo 29-1 Uma potente arma na medicina forense 890
- Adendo 29-2 O genoma humano e a terapia gênica humana 897

Agradecimentos

Nossa escrita foi apoiada por muitas pessoas cujos conselhos e encorajamentos foram cruciais ao longo dos anos de revisão, estamos em débito com todos eles. À Editora Worth, a organizadora geral do projeto e gerenciadora de seu desenvolvimento, administrada nas fases iniciais por Judith Wilson e na fase principal por Morgan Ryan, com a ajuda na hora certa, em alguns capítulos, de Linda Strange e Valerie Neal. O que mais pesou no esforço geral foi a enorme contribuição de crítica construtiva, dúvidas, encorajamento e inspiração feita por Morgan Ryan. Seu toque editorial hábil melhorou o livro de inúmeras maneiras. O manuscrito final beneficiou-se da soberba co-editoria de Linda Strange (que tem participado de todas as cinco edições dos textos de bioquímica de Lehninger). Nossa editora do projeto, Elizabeth Geller, manteve todos os elementos do livro movendo-se na direção correta ao longo do processo de produção, mostrando-nos às vezes veludo às vezes cimento. Sua energia e concentração manteve o projeto nos trilhos. Em Madison, contamos com o forte estímulo editorial e organizacional, envolvendo cada fase do projeto, fornecido por Brook Soltvedt. Na área de secretaria, foi prestada notável assistência por Shannon Baruth. Foi um grande privilégio trabalhar com um time tão talentoso e energético e a todos eles deve-se muito da qualidade deste livro.

A arte desta edição inclui o trabalho de Susan Tilberry, Laura Duprey e J.B. Woolsey e Associados. Paul Lacy, mago da Photoshop e artista da diagramação das páginas, repetitivamente alegrava-nos com páginas em que as ilustrações e o texto estavam em perfeita sincronia. Ficamos impressionados e gratificados em testemunhar o processo pelo qual nossos quase indecifráveis rabiscos foram transformados nas figuras elegantes que enfeitam este livro.

Já registramos a valiosa contribuição de Jean-Yves Sgro, que fez todos os gráficos moleculares. As fotografias usadas nesta edição foram selecionadas pela infatigável Deborah Goodsite, com assistência de Joan Peterson, Connie Gardner e Jennifer MacMillan. Yuna Lee articulou os muitos revisores deste livro e coordenou o desenvolvimento dos suplementos escritos. O desenvolvimento do site na Web do livro esteve sobre a supervisão editorial de Sonia DiVittorio. Marcy Osgood e Karen Ocorr da Universidade de Michigan, Ann Arbor, escreveram muitos dos problemas encontrados nos finais de capítulos, incluindo todos os problemas da *Bioquímica na internet*, e fizeram comentários úteis sobre o manuscrito à medida que revisavam o seu guia de estudos para este livro. Lou Pech do Colégio Carroll pesquisou e escreveu cinco dos novos adendos desta edição. Paul Marrione ajudou-nos a selecionar problemas do guia de Paul Van Eikeren para a primeira edição.

Uma das vantagens especiais que tivemos foi nosso acesso à extraordinária comunidade de pesquisadores da Universidade de Wisconsin-Madison. Mais freqüentemente do que não, a experiência de que necessitávamos para desatar um nó ou desenvolver um novo tópico estava sempre à mão. Nossos colegas municiavam-nos com dados na hora certa e ajudavam-nos de outras inúmeras maneiras. O espaço impede um detalhamento de cada contribuição, mas estamos especialmente gratos a Laurens Anderson, Wayne Becker, Brian Fox, Hazel Holden, Ivan Rayment e Brian Volkman, que passaram muitas horas nos ajudando.

Estes outros colegas de Madison também fizeram contribuições importantes a alguns aspectos do livro: Rick Amasino, Alan Attie, Sebastian Bednarek, Susan Eichhorn, Jerry Ensign, Ray Evert, Bob Fillingame, Perry Frey, Rick Gourse, Colleen Hayes, Judith Kimble, Bob Landick, Paul Ludden, John Markley, Anant Menon, James Ntambi, Ann Palmenberg, Ron Raines, Tom Record, George Reed, Bill Reznikoff, Ruth Saecker, Heinrich Schnoes, Tom Sharkey, Lloyd Smith, Sue Smith, Gary Splitter, Bill Sugden, Mike Sussman e Marv Wickens.

Fomos também capazes de nos aproveitar de contatos de todo o mundo. Por sua paciência em responder nossas questões, que freqüentemente incluíam uma leitura adicional e crítica de certas passagens, agradecemos a: Andre Adoutté (Universidade de Orsay), Marlene Belfort (Centro Wadsworth, Departamento de Saúde do Estado de Nova York), Terry Beveridge (Universidade de Guelph), Pat Brown (Universidade de Stanford), Peter Burgers (Escola de Medicina da Universidade de Washington), Joseph Clark (Universidade de Oxford), Ron Conaway (Universidade de Oklahoma), Herbert Friedmann (Universidade de Chicago), Barry Ganong (Universidade de Mansfield), Myron Goodman (Universidade do Sul da Califórnia), Jack Griffith (Universidade da Carolina do Norte), Carol Gross (Universidade da Califórnia, São Francisco), Peter Hinkle (Universidade de Cornell), Denis Lynn (Universidade de Guelph), Lynn Margulis (Universidade de Massachusetts, Amherst), Ken Marians (Centro de Câncer do Memorial Sloan-Kettering), Stanley Miller (Universidade da Califórnia, São Diego), Paul Modrich (Universidade Duke), Chris Raetz (Universidade Duke), Aziz Sancar (Universidade da Carolina do Norte, Chapel Hill), William Schopf (Universidade da Califórnia, Los Angeles), Sue Travis (Universidade de Iowa), Claire Walczak (Universidade de Indiana) e Richard Wolfenden (Universidade da Carolina do Norte).

O livro se beneficiou enormemente da experiência e sabedoria combinadas de muitos revisores. Cada capítulo foi examinado em diversas etapas por bioquímicos com interesse e experiência tanto no tópico do capítulo quanto na educação bioquímica. Estes revisores metódicos ajudaram a dar forma a esta nova edição de muitas maneiras. Pelos seus conselhos e críticas indispensáveis, agradecemos:

Revisores da terceira edição:

Sankar Adhya
Instituto Nacional do Câncer, Instituto Nacional da Saúde

Tom Alber
Universidade da Califórnia, Berkeley

Laurens Anderson
Universidade de Wisconsin-Madison

Norman Arnhein
Universidade do Sul da Califórnia

Alan Attie
Universidade de Wisconsin-Madison

Tania Baker
Instituto de Tecnologia de Massachusetts

Vahe Bandarian
Universidade de Wisconsin-Madison

Wayne Becker
Universidade de Wisconsin-Madison

Robert W. Benhohr
Penn State University

Michael R. Borenstein
Temple Universidade

Ross D. Brown, Jr.
Universidade da Flórida, Gainesville

John Browse
Universidade do Estado de Washington

Peter Burgers
Escola de Medicina da Universidade de Washington

Thomas R. Cech
Universidade do Colorado, Boulder

Michael J. Chamberlin
Universidade da Califórnia, Berkeley

Ron Conaway
Universidade de Oklahoma

Joseph Clark
Universidade de Oxford

Jaleh Dale
Universidade de Wisconsin-Madison

H. Garry Dallmann
Universidade do Colorado, Centro de Ciências da Saúde

Louis T.J. Delbaere
Universidade de Saskatchewan

William Dowhan
Escola de Medicina da Universidade do Texas, Houston

Diana Downs
Universidade de Wisconsin-Madison

Jeffrey D. Esko
Universidade do Alabama, Birmingham

Gerald W. Feigenson
Universidade de Cornell

Bob Fillingame
Universidade de Wisconsin-Madison

Hartmut Follmann
Universidade de Kassel, Kassel, Alemanha

Brian Fox
Universidade de Wisconsin-Madison

Maxim D. Frank-Kamenetskii
Universidade de Boston

Herbert Friedmann
Universidade de Chicago

David Goodman
Universidade de Princeton

Myron Goodman
Universidade do Sul da Califórnia

Jack Gorski
Universidade de Wisconsin-Madison

Ricck Gourse
Universidade de Wisconsin-Madison

Lawrence M. Gracz
Colégio de Farmácia e Ciências da Saúde de Massachusetts

Rachel Green
Escola de Medicina da Universidade Johns Hopkins

Carol Gross
Universidade da Califórnia, São Francisco

Lawrence Grossman
Universidade de Johns Hopkins

Richard I. Gumport
Universidade de Illinois, Urbana-Champaign

Mitchell F. Halperin
Hospital St. Michael, Universidade de Toronto

F. Ulrich Hartl
Instituto de Bioquímica Max-Planck

John W.B. Hershey
Escola de Medicina Davis da Universidade da Califórnia

Lowell E. Hokin
Escola de Medicina da Universidade de Wisconsin-Madison

Jon M. Kaguni
Universidade do Estado de Michigan

Pierre Kamoun
Hospital de Doenças Infantis de Necker

Harold Kasinsky
Universidade da Colúmbia Britânica

Judith Kimble
Universidade de Wisconsin-Madison

Roy L. Kisliuk
Universidade de Tufts

Randy D. Krauss
Escola de Medicina da Universidade de Boston

Bob Landick
Universidade de Wisconsin-Madison

Bob LaRossa
Companhia DuPont

Michael Lieberman
Colégio de Medicina, Universidade de Cincinnati

Janet E. Lindsley
Escola de Medicina da Universidade de Utah

Stuart Linn
Universidade da Califórnia, Berkeley

Elsebet Lund
Universidade de Wisconsin-Madison

Michael J. MacDonald
Escola de Medicina, Universidade de Wisconsin

T.F.J. Martin
Universidade de Wisconsin-Madison

Anant Menon
Universidade de Wisconsin-Madison

Julie T. Millard
Colégio Colby

Cynthia J. Moore
Universidade de Washington, St. Louis

Pierre Morell
Universidade da Carolina do Norte, Chapel Hill

Ronald L. Niece
Universidade da Califórnia, Irvine

James Ntambi
Universidade de Wisconsin-Madison

Michael O'Donnell
Universidade Rockefeller

James Ofengand
Escola de Medicina da Universidade de Miami

Archie R. Portis, Jr.
Serviço de Pesquisa da Agricultura USDA

Jack Preiss
Universidade do Estado de Michigan

Frank Pugh
Universidade do Estado da Pensilvânia

George Reed
Universidade de Wisconsin-Madison

David Reibstein
Universidade da Pensilvânia

Bill Reznikoff
Universidade de Wisconsin-Madison

Daniel H. Rich
Universidade de Wisconsin-Madison

Peter J. Roach
Escola de Medicina da Universidade de Indiana

Gary Roberts
Universidade de Wisconsin-Madison

Jeff Roberts
Universidade de Cornell

Francis Rolleston
Conselho de Pesquisas Médicas do Canadá

Douglas W. Russell
Universidade Dalhousie, Nova Escócia, Canadá

Lisa M. Salati
Escola de Medicina da Universidade da Virgínia do Oeste

Aziz Sancar
Universidade da Carolina do Norte, Chapel Hill

Paul Schimmel
Instituto de Pesquisas Scripps

Bob Scheleif
Universidade Johns Hopkins

Herbert P. Schweizer
Universidade do Estado do Colorado

Tom Sharkey
Universidade de Wisconsin-Madison

Richard R. Sinden
Instituto de Biociências e Tecnologia, Universidade do Texas A&M

Cassandra L. Smith
Universidade de Boston

Lloyd M. Smith
Universidade de Wisconsin-Madison

Gary Splitter
Universidade de Wisconsin-Madison

Howard Sprecher
Colégio de Medicina e Saúde Pública, Universidade do Estado de Ohio

William Tapprich
Universidade de Nebraska, Omaha

Jeremy Thorner
Universidade da Califórnia, Berkeley

Bruce Tiberiis
Universidade da Colúmbia Britânica

Harald Tschesche
Universidade de Bielefeld, Bielefeld, Alemanha

Thomas L. Vandergon
Universidade de Pepperdine

Désirée Vanderwel
Universidade de Winnipeg

Alejandro J. Vera
Universidade da Colúmbia Britânica

Jon A. Wolff
Escola de Medicina, Universidade de Wisconsin

William Wolodko
Universidade de Alberta

Não temos espaço aqui para agradecer a todos os outros indivíduos cujos esforços especiais se encaminharam para este livro. Em vez disso, oferecemos nossos sinceros agradecimentos e o livro pronto que eles ajudaram a guiar para a finalização. Nós, é claro, assumimos a total responsabilidade pelos erros de fato ou ênfase.

Somos gratos aos nossos estudantes na Universidade de Wisconsin-Madison, que forneceram inspiração (especialmente Jason Celitti, que ofereceu valiosa crítica, e Erik Mikkelson, um excelente revisor de química); aos estudantes e técnicos de nossos grupos de pesquisa, que nos ajudaram a equilibrar a competição entre as demandas de pesquisa, ensino, administração e escrita do livro; aos nossos colegas do Departamento de Bioquímica em Madison, que pacientemente responderam nossas questões, corrigiram nossos conceitos equivocados e, em muitos casos, revisaram nossos capítulos. Recebemos muitas cartas nos últimos oito anos de estudantes e professores que usaram nosso livro e que apontaram pontos que poderiam estar melhores, aos quais agradecemos. (Esperamos que os usuários futuros continuem a nos contar como podemos melhorar este livro.) Queremos também agradecer ao time de Lehninger na Editora Worth, que nos permitiram a liberdade de que necessitávamos e exibiram extraordinária paciência quando fazíamos a última interrupção para "finalizar" os capítulos, e cuja dedicação em produzir um livro de qualidade inspirava nossos melhores esforços e tornaram esta uma experiência recompensadora.

Finalmente, exprimimos o nosso mais profundo apreço a nossas esposas, Brook e Beth, e a nossas crianças, que suportaram as longas noites e fins de semana que dedicamos à escrita do livro com extraordinária boa vontade e constante encorajamento.

Madison, Wisconsin
Outubro 1999

David L. Nelson
Michael M. Cox

Sobre os Autores

Michael M. Cox e David L. Nelson

David L. Nelson, nascido em Fairmont, Minnesota, recebeu seu BS em Química e Biologia no Colégio St. Olaf em 1964. Ele obteve seu PhD em Bioquímica na Escola de Medicina em Stanford com Arthur Kornberg e foi um bolsista de pós-doutorado na Escola de Medicina de Harvard com Eugene P. Kennedy, que foi um dos primeiros estudantes de pós-graduação de Lehninger. Nelson foi para a Universidade de Wisconsin-Madison em 1971 e tornou-se um professor titular de bioquímica em 1982.

A tese de pesquisa em Stanford foi sobre o metabolismo intermediário da bactéria durante a esporulação e germinação. Em Harvard, ele estudou a energética, genética e bioquímica do transporte iônico em *E. coli*. Em Wisconsin, sua pesquisa tem focalizado as transduções de sinais que regulam a movimentação ciliar e a exocitose no protozoário *Paramecium*. As enzimas das transduções de sinais, incluindo uma variedade de proteínas quinases, são seus principais alvos de estudo. Seu grupo de pesquisa usa a purificação de enzimas, técnicas imunológicas, microscopia eletrônica, genética, biologia molecular e eletrofisiologia para estudar esses processos.

O Dr. Nelson possui um registro ilustre de conferencista e supervisor de pesquisa. Por trinta anos ele lecionou um curso intensivo de bioquímica para estudantes avançados de bioquímica e estudantes de pós-graduação nas ciências da saúde (usando os livros *Bioquímica* e *Princípios de Bioquímica de Lehninger*). Ele também lecionou um curso de bioquímica para estudantes de enfermagem, um curso de pós-graduação sobre estrutura e função de membrana e um seminário de pós-graduação sobre membranas e transduções sensoriais. Patrocinou numerosos PhD, MS e teses de honras colegiais e recebeu prêmios por sua excelência no ensino, incluindo o Prêmio Escolar Dreyfus e de Distinto Professorado Atwod. Em 1991-1992, ele foi um professor visitante de química e biologia no Colégio Spelman.

Michael M. Cox, nascido em Wilmington, Delaware. No seu primeiro curso de bioquímica, o livro *Bioquímica* de Lehninger foi uma grande influência que o fez voltar à sua fascinação pela biologia e inspirá-lo a seguir uma carreira em bioquímica. Após sua graduação na Universidade de Delaware em 1974, Cox foi à Universidade de Brandeis para fazer o seu trabalho doutoral com William Jencks e depois para Stanford em 1979 para o seu estudo pós-doutoral com I. Robert Lehman, mudando-se para a Universidade de Wisconsin-Madison em 1983. Tornou-se professor titular de bioquímica em 1992.

Sua tese de doutoramento foi sobre a catálise ácido e base como um modelo para as reações catalisadas por enzimas. Em Stanford, Cox começou a trabalhar com as enzimas envolvidas na recombinação genética, desenvolvendo métodos de purificação e de ensaios ainda usados, iluminando o processo de migração da ramificação do DNA e clonando o gene para uma recombinação sítio-específica de levedura. A exploração das enzimas de recombinação genética permaneceu seu tema central de pesquisa.

O Dr. Cox tem coordenado um grande e ativo grupo de pesquisa em Wisconsin, investigando a enzimologia, a topologia e a energética da recombinação genética. Um primeiro foco tem sido o mecanismo da troca de fitas do DNA e o papel do ATP no sistema da RecA. O grupo de pesquisa tem também se concentrado na recombinase FLP da levedura e no processo que ela controla, e está desenvolvendo sistemas cromossômicos alvos baseados na recombinase FLP. Durante os últimos quinze anos ele ensinou (com David Nelson) um curso de bioquímica e lecionou em cursos de pós-graduação sobre a estrutura e topologia do DNA, interações proteína–DNA e a bioquímica da recombinação. Recebeu prêmios tanto em pesquisa quanto em ensino, incluindo o Prêmio Escolar Dreyfus e o Prêmio Eli Lilly de 1989 em Química Biológica. Seus passatempos incluem jardinagem, coleção de vinho e ajudar na planificação de prédios de laboratórios.

Aos nossos professores:

Paul R. Burton
Albert Finholt
William P. Jencks
Eugene P. Kennedy
Homer Knoss
Arthur Kornberg
I. Robert Lehman
Earl K. Nelson
David E. Sheppard
Harold B. White

Conteúdo Resumido

I Fundamentos de Bioquímica 1

1 A Lógica Molecular da Vida 3
2 Células 16
3 Biomoléculas 41
4 Água 64

II Estrutura e Catálise 87

5 Aminoácidos, Peptídeos e Proteínas 89
6 Estrutura Tridimensional das Proteínas 123
7 Funções das Proteínas 159
8 Enzimas 189
9 Carboidratos e Glicoconjugados 225
10 Nucleotídeos e Ácidos Nucléicos 250
11 Lipídios 280
12 Membranas Biológicas e Transporte 301
13 Biossinalização 340

III Bioenergética e Metabolismo 379

14 Princípios de Bioenergética 383
15 A Glicólise e o Catabolismo das Hexoses 409
16 O Ciclo do Ácido Cítrico 441
17 A Oxidação dos Ácidos Graxos 465
18 A Oxidação dos Aminoácidos e a Produção de Uréia 486
19 Fosforilação Oxidativa e Fotofosforilação 515
20 Biossíntese de Carboidratos 563
21 Biossíntese de Lipídios 599
22 Biossíntese de Aminoácidos, Nucleotídeos e Moléculas Relacionadas 639
23 Integração e Regulação Hormonal do Metabolismo de Mamíferos 682

IV Vias da Informação 711

24 Genes e Cromossomos 713
25 Metabolismo do DNA 733
26 Metabolismo do RNA 771
27 Metabolismo das Proteínas 805
28 Regulação da Expressão Gênica 846
29 Tecnologia do DNA Recombinante 880

Apêndice A Abreviações Comuns na Literatura da Pesquisa Bioquímica 909
Apêndice B Soluções Resumidas dos Problemas 912
Créditos das Ilustrações 931
Glossário 937
Índice Remissivo 955

Conteúdo

I Fundamentos de Bioquímica 1

1 A Lógica Molecular da Vida 3

A Unidade Química dos Diferentes Organismos Vivos 3

A bioquímica procura explicar a vida em termos químicos 4
Todas as macromoléculas são construídas a partir de poucos compostos simples 5

A Produção de Energia e seu Consumo no Metabolismo 5

Os organismos nunca estão em equilíbrio com seu ambiente 6
A composição molecular reflete um estado estacionário dinâmico 6
Os organismos transformam energia e matéria do meio ambiente 6
O fluxo de elétrons fornece energia para os organismos 7
Acoplamento de energia liga as reações químicas em biologia 8
As enzimas promovem reações químicas em cadeia 9
O metabolismo é regulado para ser econômico e equilibrado 10

Transferência da Informação Biológica 11

A continuidade genética é atribuição das moléculas de DNA 11
A estrutura do DNA permite seu reparo e sua replicação com fidelidade quase perfeita 11
Mudanças nas instruções hereditárias permitem a evolução 12
A anatomia molecular revela relações evolucionárias 12
A seqüência linear do DNA codifica proteínas com estruturas tridimensionais 13
Interações não-covalentes estabilizam as estruturas tridimensionais 14

As Raízes Físicas do Mundo Bioquímico 14

Leitura Adicional 15

2 Células 16

Dimensões Celulares 17

Células e Tecidos Usados em Estudos Bioquímicos 17

Evolução e Estrutura das Células Procarióticas 19

A *Escherichia coli* é a célula procariótica mais bem estudada 20

Evolução das Células Eucarióticas 21

As células eucarióticas evoluíram das procarióticas em várias etapas 21
As células eucarióticas primitivas deram origem a diversos protistas 22

Principais Características Estruturais das Células Eucarióticas 22

A membrana plasmática contém transportadores e receptores 22
A endocitose e a exocitose realizam o fluxo através da membrana plasmática 24
O retículo endoplasmático organiza a síntese das proteínas e lipídios 24
O complexo de Golgi processa e distribui as proteínas 25
Os lisossomos são os locais das reações degradativas 26
Os vacúolos das células de plantas desempenham várias funções importantes 26
Os peroxissomos destroem os peróxidos de hidrogênio e os glioxissomos convertem gorduras em carboidratos 26
O núcleo contém o genoma 26
As mitocôndrias são as estações de força das células eucarióticas aeróbicas 28
Os cloroplastos convertem a energia solar em energia química 29
As mitocôndrias e os cloroplastos provavelmente se desenvolveram de bactérias endossimbióticas 29
O citoesqueleto estabiliza a forma celular, organiza o citoplasma e produz movimento 29
O citoplasma é abarrotado, altamente ordenado e dinâmico 32

O Estudo dos Componentes Celulares 32

As organelas podem ser isoladas por centrifugação 32
Estudos *in vitro* podem oferecer uma visão geral de importantes interações entre as moléculas 33

Evolução dos Organismos Multicelulares e da Diferenciação Celular 34

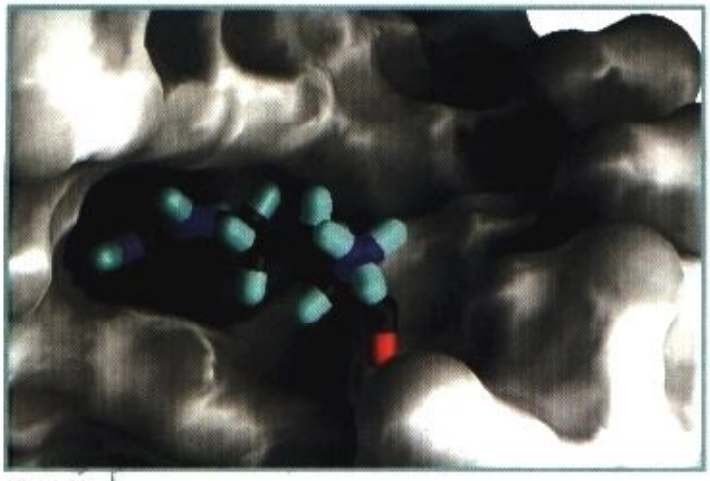
Vírus: Parasitas das Células 34

Resumo 37 Leitura Adicional 38 Problemas 39

3 Biomoléculas 41

Composição e Ligação Química 41

As biomoléculas são compostos de carbono 41
Os grupos funcionais determinam as propriedades químicas 42



página 48

Estrutura Tridimensional: Configuração e Conformação 44

A configuração de uma molécula é mudada somente pela quebra de uma ligação 45

▪ **Adendo 3-1** *Louis Pasteur e a atividade óptica*: in vino, veritas 47

A conformação molecular é alterada pela rotação ao redor das ligações simples 47

Configuração e conformação definem estruturas de biomoléculas 48

Interações entre biomoléculas são estereoespecíficas 48

Reatividade Química 49

A força da ligação está relacionada às propriedades dos átomos que dela participam 49

Nas células ocorrem cinco tipos gerais de transformações químicas 50

Todas as reações de oxirredução envolvem transferência de elétrons 50

Ligações carbono-carbono são quebradas e formadas por reações de substituição nucleofílica 51

Transferência de elétrons intramolecular produz rearranjos internos 51

Reações de transferência de grupos ativam intermediários metabólicos 52

Biopolímeros são formados por condensações 53

Macromoléculas e Suas Subunidades Monoméricas 54

Os principais constituintes das células são macromoléculas 54

As macromoléculas são construídas com subunidades monoméricas 54

As subunidades monoméricas têm estruturas simples 54

A condensação entre as subunidades cria ordem e requer energia 56

A estrutura celular é hierarquizada 56

Evolução Pré-Biótica 57

As primeiras biomoléculas apareceram por evolução química 57

A evolução química pode ser simulada no laboratório 58

As moléculas de RNA podem ter sido os primeiros genes e catalisadores 59

A evolução biológica começou há mais de três e meio bilhões de anos 59

Resumo 60 Leitura Adicional 61 Problemas 62

4 Água 64

Interações Fracas em Sistemas Aquosos 64

As pontes de hidrogênio conferem à água suas propriedades incomuns 64

A água forma pontes de hidrogênio com os solutos polares 66

A água interage eletrostaticamente com os solutos que exibem carga elétrica 66

A entropia aumenta quando substâncias cristalinas são dissolvidas 68

Os gases não-polares são pouco solúveis em água 68

Compostos não-polares forçam mudanças energeticamente desfavoráveis na estrutura da água 68

As interações de van der Walls são atrações interatômicas fracas 70

As interações fracas são cruciais para a estrutura e a função das macromoléculas 70

Os solutos afetam as propriedades coligativas das soluções aquosas 70

Ionização da Água, Ácidos Fracos e Bases Fracas 72

A água pura é ligeiramente ionizada 72

▪ **Adendo 4-1** *Resposta ao toque nas plantas: um evento osmótico* 73

A ionização da água é expressa por uma constante de equilíbrio 74

A escala de pH designa as concentrações de H^+ e OH^- 74

▪ **Adendo 4-2** *O produto iônico da água: dois problemas ilustrativos* 75

Ácidos fracos e bases fracas têm constantes de dissociação características 76

As curvas de titulação revelam o pK_a dos ácidos fracos 76

Ação Tamponante contra as Variações de pH nos Sistemas Biológicos 77

Os tampões são misturas de ácidos fracos e suas bases conjugadas 78

Uma expressão simples relaciona o pH, o p*K* e a concentração do tampão 78

▪ **Adendo 4-3** *Resolvendo problemas usando a equação de Henderson-Hasselbach* 79

Os ácidos fracos ou as bases fracas tamponam as células e os tecidos contra as variações de pH 79

▪ **Adendo 4-4** *Sangue, pulmões e tampão: o sistema-tampão bicarbonato* 80

A Água como Reagente 81

A Adequação do Ambiente Aquoso para os Organismos Vivos 81

Resumo 82 Leitura Adicional 82 Problemas 83

II Estrutura e Catálise 87

5 Aminoácidos, Peptídeos e Proteínas 89

Aminoácidos 89

Os aminoácidos têm características estruturais comuns 90

Os resíduos de aminoácidos nas proteínas são L-estereoisômeros 91

Os aminoácidos podem ser classificados pelos seus grupos R 92

▪ **Adendo 5-1** *Absorção da luz pelas moléculas: a lei de Lambert-Beer* 93

Os aminoácidos não-primários também possuem importantes funções 94

Os aminoácidos podem agir como ácidos e bases 95

Os aminoácidos têm curvas de titulação características 95

As curvas de titulação predizem a carga elétrica dos aminoácidos 96

Os aminoácidos diferem em suas propriedades acidobásicas 96

Peptídeos e Proteínas 97

Os peptídeos são cadeias de aminoácidos 97

Os peptídeos podem ser distinguidos entre si por meio de seu comportamento de ionização 98

Peptídeos e polipeptídeos biologicamente ativos ocorrem em uma ampla faixa de tamanhos 98
Os polipeptídeos possuem composições de aminoácidos características 99
Algumas proteínas contêm outros grupos químicos além dos aminoácidos 99
Existem diversos níveis de estrutura protéica 100

Trabalhando com as Proteínas 100
As proteínas podem ser separadas e purificadas 100
As proteínas podem ser separadas e caracterizadas por eletroforese 103
Proteínas que não foram separadas podem ser quantificadas 104

A Estrutura Covalente das Proteínas 106
A função de uma proteína depende da sua seqüência de aminoácidos 106
▪ **Adendo 5-2** *Homologia de proteínas entre as espécies* 107
As seqüências de aminoácidos de numerosas proteínas já foram determinadas 108
Polipeptídeos pequenos são seqüenciados por procedimentos automatizados 109
Grandes proteínas devem ser seqüenciadas em segmentos menores 110
As seqüências de aminoácidos também podem ser deduzidas por outros métodos 113
▪ **Adendo 5-3** *Investigando proteínas com a espectrometria de massa* 113
A seqüência de aminoácidos fornece importantes informações bioquímicas 116
Peptídeos pequenos e proteínas podem ser sintetizados quimicamente 116

Resumo 118 Leitura Adicional 118 Problemas 119

6 Estrutura Tridimensional das Proteínas 123

Aspectos Gerais da Estrutura Protéica 123
A conformação de uma proteína é estabilizada em grande parte por interações fracas 129
A ligação peptídica é rígida e plana 124

A Estrutura Secundária das Proteínas 126
A α-hélice é uma estrutura secundária comum 126
▪ **Adendo 6-1** *Identificando hélices orientadas à direita ou à esquerda* 127
A seqüência de aminoácidos afeta a estabilidade da α-hélice 128
A conformação β organiza as cadeias polipeptídicas em folhas 129
As dobras β são comuns nas proteínas 130
Estruturas secundárias comumente encontradas apresentam ângulos de ligação e conteúdo de aminoácidos característicos 130

Estruturas Terciárias e Quaternárias das Proteínas 131
As proteínas fibrosas são estruturalmente adaptadas para uma função 132
▪ **Adendo 6-2** *A ondulação permanente em cabelos é uma engenharia bioquímica* 133
A diversidade estrutural reflete a diversidade funcional nas proteínas globulares 136
A mioglobina forneceu as primeiras evidências sobre a complexidade da estrutura protéica globular 136
▪ **Adendo 6-3** *Métodos para a determinação da estrutura tridimensional de uma proteína* 138
As proteínas globulares apresentam diversas estruturas terciárias 142
A análise de muitas proteínas globulares revela padrões estruturais comuns 143
Os motivos das proteínas formam a base para a classificação estrutural das proteínas 144
Estruturas quaternárias de proteínas variam desde simples dímeros até grandes complexos 145
Há limites para o tamanho das proteínas 149

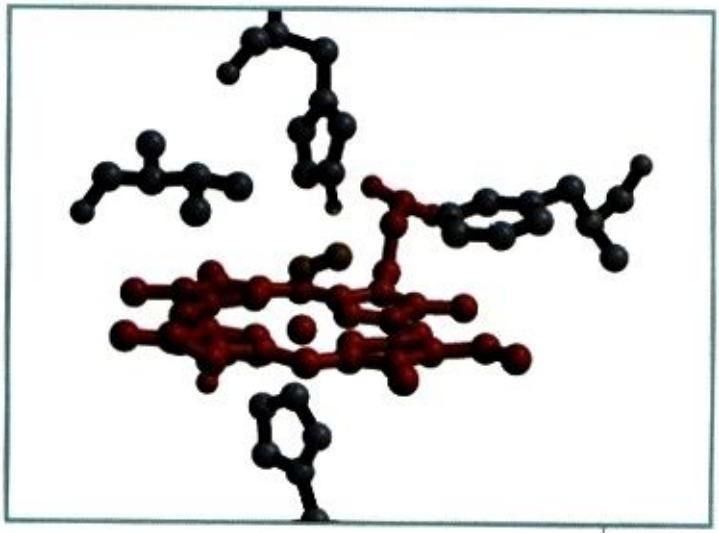
Desnaturação Protéica e Enovelamento 149
A perda da estrutura protéica resulta na perda da função 150
A seqüência de aminoácidos determina a estrutura terciária 150
Os polipeptídeos se enovelam rapidamente por um processo em etapas 151
▪ **Adendo 6-4** *A morte por enovelamento incorreto: a doença do prion* 153
Algumas proteínas são submetidas a enovelamento assistido 153

Resumo 155 Leitura Adicional 156 Problemas 157

7 Funções das Proteínas 159

Ligação Reversível de uma Proteína com um Ligante: Proteínas Ligadoras de Oxigênio 159
O oxigênio pode ligar-se a um grupo prostético heme 159
A mioglobina tem um único sítio de ligação para o oxigênio 160
As interações proteína-ligante podem ser descritas quantitativamente 161
A estrutura protéica afeta a maneira pela qual os ligantes se ligam 162
O oxigênio do sangue é transportado pela hemoglobina 163
As subunidades da hemoglobina são estruturalmente semelhantes às da mioglobina 163
A hemoglobina passa por uma mudança estrutural com a ligação do oxigênio 165
A hemoglobina liga-se ao oxigênio de modo cooperativo 166
A ligação cooperativa do ligante pode ser descrita de modo quantitativo 167
Dois modelos sugerem mecanismos de ligação cooperativa 167
A hemoglobina também transporta o H^+ e CO_2 168
A ligação do oxigênio à hemoglobina é regulada pelo 2,3-bifosfoglicerato 169
A anemia falciforme é uma doença molecular da hemoglobina 171

Interações Complementares entre Proteínas e Ligantes: Sistema Imunológico e Imunoglobulinas 172
A resposta imunológica caracteriza-se por um grande número de células e proteínas especializadas 172
A apresentação de peptídeos na superfície das células distingue o "próprio" do "não-próprio" 173



Interações moleculares na superfície celular desencadeiam a resposta imunológica 175
Os anticorpos possuem dois sítios de ligação aos antígenos idênticos 176
Os anticorpos ligam-se firme e especificamente aos antígenos 178
A interação anticorpo-antígeno é a base de uma variedade de importantes procedimentos analíticos 179

Interações entre Proteínas Moduladas por Energia Química: Actina, Miosina e Motores Moleculares 180
As principais proteínas do músculo são a miosina e a actina 181
Proteínas adicionais organizam os filamentos finos e grossos em estruturas ordenadas 182
Os filamentos grossos da miosina deslizam ao longo dos filamentos finos de actina 184

Resumo 185 Leitura Adicional 186 Problemas 187

8 Enzimas 189

Uma Introdução às Enzimas 189
A maioria das enzimas são proteínas 190
As enzimas são classificadas pelas reações que catalisam 190

Como as Enzimas Funcionam 191
As enzimas afetam a velocidade mas não o equilíbrio químico das reações 191
A velocidade e o equilíbrio das reações têm definições termodinamicamente precisas 193
Alguns princípios explicam o poder catalítico e a especificidade das enzimas 193
As interações fracas entre a enzima e o substrato são otimizadas no estado de transição 194
A energia de ligação contribui para a especificidade da reação e a catálise 196
Grupos catalíticos específicos contribuem para a catálise 197

A Cinética Enzimática como uma Abordagem para a Compreensão do Mecanismo de Ação das Enzimas 198
A concentração do substrato afeta a velocidade das reações catalisadas por enzimas 199
A relação entre a concentração do substrato e a velocidade da reação pode ser expressa quantitativamente 200
Os parâmetros cinéticos são usados para comparar as atividades das enzimas 201
▪ **Adendo 8-1** *Transformações da equação de Michaelis-Menten: o gráfico dos duplos recíprocos* 201
Muitas enzimas catalisam reações que envolvem dois ou mais substratos 203
A cinética do estado pré-estacionário pode fornecer evidências para etapas específicas da reação 203
As enzimas são sujeitas à inibição 204
A inibição reversível pode ser competitiva, incompetitiva ou mista 204
A inibição irreversível é uma ferramenta importante na pesquisa das enzimas e em farmacologia 205
▪ **Adendo 8-2** *Testes cinéticos para a determinação dos mecanismos de inibição* 206
A atividade enzimática é afetada pelo pH 207

Exemplos de Reações Enzimáticas 207
O mecanismo das reações ilustra princípios 207
▪ **Adendo 8-3** *Evidências da complementaridade entre a enzima e o estado de transição* 208

Enzimas Reguladoras 213
As enzimas alostéricas sofrem mudanças conformacionais em resposta à ligação do modulador 214
A etapa reguladora em muitas vias é catalisada por uma enzima alostérica 215
As propriedades cinéticas das enzimas alostéricas divergem do comportamento de Michaelis-Menten 215
Algumas enzimas reguladoras sofrem modificações covalentes reversíveis 217
Os grupos fosfato afetam a estrutura e a atividade catalítica das proteínas 217
Fosforilações múltiplas proporcionam um apurado controle regulador 219
Alguns tipos de regulação requerem a proteólise de um precursor enzimático 219
Algumas enzimas reguladoras usam mecanismos de regulação múltiplos 220

Resumo 221 Leitura Adicional 222 Problemas 222

9 Carboidratos e Glicoconjugados 225

Monossacarídeos e Dissacarídeos 225
As duas famílias de monossacarídeos: aldoses e cetoses 226
Os monossacarídeos possuem centros assimétricos 226
Os monossacarídeos comuns possuem estruturas cíclicas 228
Os organismos contêm uma variedade de derivados das hexoses 230
Os monossacarídeos são agentes redutores 231
Os dissacarídeos contêm uma ligação glicosídica 231

Polissacarídeos 232
O amido e o glicogênio são combustíveis armazenados 233
A celulose e a quitina são homopolissacarídeos estruturais 234
As paredes celulares bacterianas contêm peptideoglicanos 236
Os glicosaminaglicanos são componentes da matriz extracelular 237

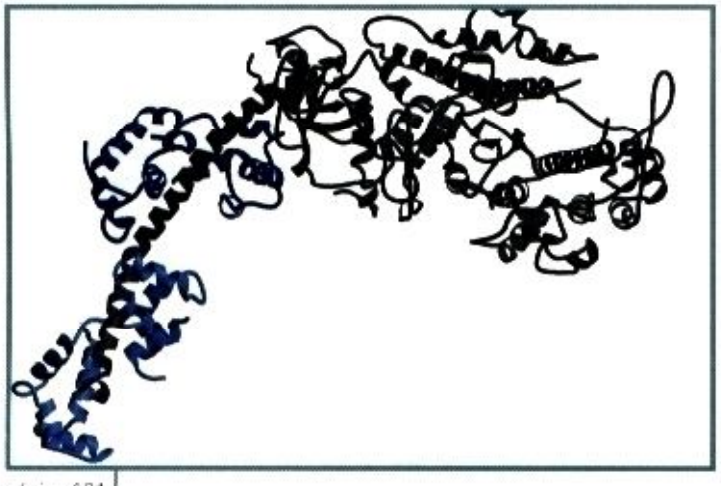
Glicoconjugados: Proteoglicanos, Glicoproteínas e Glicolipídios 237
Os proteoglicanos são macromoléculas da superfície celular e da matriz extracelular, contendo glicosaminoglicanos 238
As glicoproteínas são conjugados ricos em informações contendo oligossacarídeos 240
Glicolipídios e lipossacarídeos são componentes da membrana 241
As interações oligossacarídeo-lectina medeiam muitos processos biológicos 242

Análise de Carboidratos 243

Resumo 245 Leitura Adicional 246 Problemas 247

10. Nucleotídeos e Ácidos Nucléicos 250

Alguns Aspectos Básicos 250
Os nucleotídeos e os ácidos nucléicos possuem bases e pentoses características 250
As ligações fosfodiésteres unem os nucleotídeos sucessivos aos ácidos nucléicos 253



As propriedades das bases dos nucleotídeos afetam a estrutura tridimensional dos ácidos nucléicos 254

Estrutura do Ácido Nucléico 256
O DNA armazena a informação genética 256
As moléculas de DNA possuem composições de base distintas 256
O DNA é uma dupla hélice 256
O DNA pode ocorrer em formas tridimensionais diferentes 260
Certas seqüências de DNA adotam estruturas não usuais 261
RNAs mensageiros codificam cadeias polipeptídicas 262
Muitos RNAs possuem estruturas tridimensionais mais complexas 264

A Química do Ácido Nucléico 267
A dupla hélice do DNA e o RNA podem ser desnaturados 267
Ácidos nucléicos de diferentes espécies podem formar híbridos 268
Nucleotídeos e ácidos nucléicos sofrem transformações não-enzimáticas 269
Algumas bases do DNA são metiladas 271
As seqüências de longas fitas de DNA podem ser determinadas 271
A síntese química do DNA foi automatizada 273

Outras Funções dos Nucleotídeos 273
Os nucleotídeos transportam a energia química nas células 273
Os nucleotídeos de adenina são componentes de muitos co-fatores enzimáticos 275
Alguns nucleotídeos são moléculas regulatórias 275

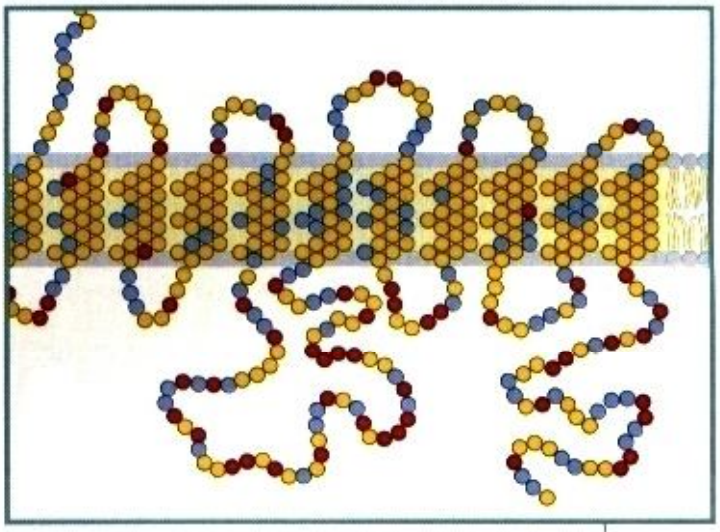
Resumo 277 Leitura Adicional 277 Problemas 278

11 Lipídios 280

Lipídios de Armazenamento 280
Os ácidos graxos são derivados dos hidrocarbonetos 280
Os triacilgliceróis são ésteres de ácidos graxos do glicerol 282
Os triacilgliceróis armazenam energia e fornecem insulação 282
Muitos alimentos contêm triacilgliceróis 283
▪ **Adendo 11-1** *Os cachalotes: cabeças de sebo das profundezas* 283
As ceras servem como armazéns de energia e como repelentes de água 284

Lipídios Estruturais em Membranas 284
Glicerofosfolipídios são derivados do ácido fosfatídico 285
Alguns fosfolipídios têm ácidos graxos unidos por ligação éter 285
Esfingolipídios são derivados da esfingosina 287
Esfingolipídios na superfície celular são sítios de reconhecimento biológico 288
Fosfolipídios e esfingolipídios são degradados nos lisossomos 288
Os esteróis possuem quatro anéis hidrocarbonados fundidos 289
▪ **Adendo 11-2** *Algumas doenças humanas herdadas resultam do acúmulo anormal de lipídios de membrana* 290

Lipídios como Sinais, Co-fatores e Pigmentos 291
Fosfatidilinositóis agem como sinais intracelulares 291
Os eicosanóides transportam mensagens às células vizinhas 291
Os hormônios esteróides transportam mensagens entre os tecidos 292
Vitaminas A e D são precursores de hormônios 293
Vitaminas E e K e as quinonas lipídicas são co-fatores de oxidação e redução 294
Os dolicóis ativam açúcares precursores para a biossíntese 295



página 318

Separação e Análise dos Lipídios 295
A extração de lipídios requer solventes orgânicos 295
Cromatografia de adsorção separa lipídios de polaridades diferentes 296
Cromatografia gás-líquido separa misturas de derivados voláteis de lipídios 298
A hidrólise específica ajuda na determinação da estrutura de lipídios 298
Espectometria de massa revela a estrutura completa de lipídios 298

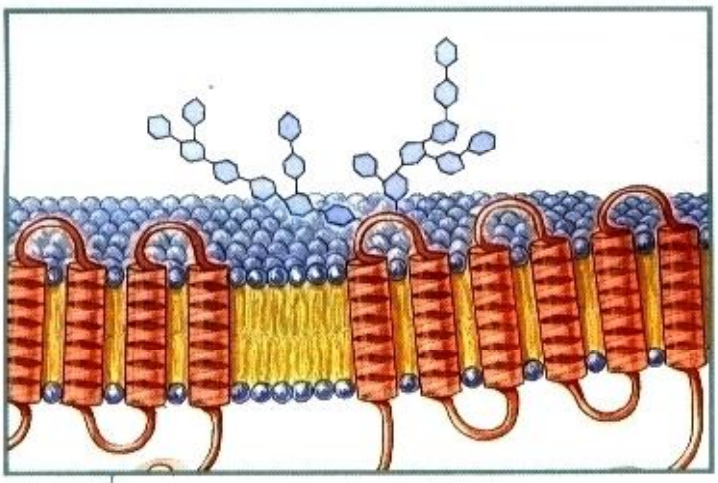
Resumo 298 Leitura Adicional 299 Problemas 300

12 Membranas Biológicas e Transporte 301

Os Constituintes Moleculares das Membranas 301
Cada tipo de membrana possui lipídios e proteínas características 302

A Arquitetura Supramolecular das Membranas 303
A bicamada de lipídios é o elemento estrutural básico das membranas 303
Os lipídios de membrana estão em movimentação constante 305
As proteínas de membrana difundem-se lateralmente na bicamada 306
Algumas proteínas de membrana atravessam a bicamada de lipídios 306
▪ **Adendo 12-1** *Observando as membranas* 307
As proteínas periféricas de membrana são facilmente solubilizadas 309
Lipídios covalentemente ligados se ancoram em algumas proteínas periféricas de membrana 309
Proteínas integrais são mantidas na membrana por interações hidrofóbicas com lipídios 310
A topologia de uma proteína integral de membrana pode algumas vezes ser predita a partir da sua seqüência 311
Proteínas integrais medeiam as interações célula-célula e a adesão 313
A fusão de membranas é central a muitos processos biológicos 313

Transporte de Solutos através das Membranas 316
O transporte passivo é facilitado por proteínas de membrana 316
As aquaporinas formam canais hidrofílicos transmembrana para a passagem de água 318
O transportador da glicose dos eritrócitos medeia o transporte passivo 318
O cloreto e o bicarbonato são co-transportados através da membrana do eritrócito 320



página 318

■ **Adendo 12-2** *Transporte defeituoso da glicose e da água em duas formas de diabetes* 321
O transporte ativo leva à movimentação do soluto contra um gradiente de concentração ou eletroquímico 322
Há pelo menos quatro tipos gerais de ATPases de transporte 323
Uma ATPase do tipo P catalisa o transporte ativo duplo de Na^+ e K^+ 325
Bombas de Ca^+ direcionadas por ATP mantêm baixa concentração de cálcio no citosol 325
■ **Adendo 12-3** *Um canal iônico defeituoso causa a fibrose cística* 326
Gradientes iônicos fornecem a energia para o transporte secundário ativo 327
Canais iônicos seletivos permitem a rápida movimentação de íons através das membranas 328
A estrutura de um canal de K^+ mostra a base de sua especificidade iônica 329
O receptor da acetilcolina é um canal iônico dependente de um ligante 330
O canal neuronal de Na^+ é um canal iônico dependente de voltagem 332
A função do canal iônico é medida eletricamente 332
Canais iônicos defeituosos podem apresentar conseqüências fisiológicas surpreendentes 332
As porinas são canais transmembrana para moléculas pequenas 334

Resumo 336 Leitura Adicional 337 Problemas 338

13 Biossinalização 340

Mecanismos Moleculares da Transdução de Sinal 340
■ **Adendo 13-1** *A análise de Scatchard quantifica a interação receptor-ligante* 342

Canais Iônicos 341
Os canais iônicos estão sujeitos à sinalização elétrica nas células excitáveis 341
O receptor nicotínico da acetilcolina é um canal iônico aberto por um ligante 344
Canais iônicos abertos por voltagem produzem potenciais de ação neuronal 345
Os neurônios possuem receptores de canais que respondem a uma variedade de neurotransmissores 346

Receptores Enzimáticos 346
O receptor da insulina é uma proteína tirosina quinase específica 346
A guanilil ciclase é um receptor enzimático que produz o mensageiro secundário cGMP 348

Receptores Ligados à Proteína G e a Mensageiros Secundários 349
O sistema do receptor β-adrenérgico atua por meio do mensageiro secundário cAMP 350
O receptor β-adrenérgico é dessensibilizado pela fosforilação 353
O AMP cíclico atua como um mensageiro secundário para várias moléculas regulatórias 353
Dois mensageiros secundários são derivados dos fosfatidilinositóis 354
O cálcio é um mensageiro secundário em muitas transduções de sinais 356

Transdução Sensorial na Visão, Olfação e Gustação 357
A luz hiperpolariza as células bastonetes e cones dos olhos dos vertebrados 357
A luz desencadeia mudanças conformacionais no receptor da rodopsina 358
A rodopsina excitada atua por meio da proteína G transducina para reduzir a concentração do cGMP 359
A amplificação de sinal ocorre nas células bastonetes e cones 360
O sinal visual é terminado rapidamente 360
A rodopsina é dessensibilizada pela fosforilação 360
As células cones se especializaram na visão colorida 360
A olfação e a gustação dos vertebrados usam mecanismos semelhantes ao sistema visual 361
■ **Adendo 13-2** *Cegueira às cores: o experimento de John Dalton direto do túmulo* 361
Proteínas G acopladas aos sistemas de receptores serpenteantes compartilham várias características 362
A ruptura da sinalização da proteína G provoca doença 364

A Fosforilação como um Mecanismo Regulatório 364
A localização das proteínas quinases e fosfatases afetam a especificidade das proteínas-alvo 365

Regulação da Transcrição por Hormônios Esteróides 365

Regulação do Ciclo Celular por Proteínas Quinases 366
O ciclo celular possui quatro etapas 366
Os níveis das proteínas quinases dependentes de ciclinas oscilam 366
As CDKs regulam a divisão celular pela fosforilação de proteínas críticas 369

Oncogenes, Genes Supressores de Tumores e Morte Celular Programada 370
Os oncogenes são formas mutantes dos genes para as proteínas que regulam o ciclo celular 370
Defeitos em genes supressores de tumores removem as restrições normais na divisão celular 371
A apoptose é o suicídio celular programado 372

Resumo 373 Leitura Adicional 374 Problemas 376

III Bioenergética e Metabolismo 379

14 Princípios de Bioenergética 383

Bioenergética e Termodinâmica 383
As transformações biológicas de energia seguem as leis da termodinâmica 383
As células necessitam de fontes de energia livre 384
A variação de energia livre padrão está diretamente relacionada com a constante de equilíbrio 384
■ **Adendo 14-1** *Entropia: as vantagens de haver desorganização* 385
A variação de energia livre *real* depende das concentrações de reagentes e produtos 387
As variações da energia livre padrão são aditivas 388

Transferências de Grupo Fosforil e ATP 389

A variação da energia livre para a hidrólise do ATP é grande e negativa 389
Outros compostos fosforilados e tioésteres também apresentam altos valores de energia livre de hidrólise 390
▪ **Adendo 14-2** *A energia livre de hidrólise do ATP no interior das células: o verdadeiro custo dos negócios metabólicos* 390
O ATP fornece energia por transferência de grupos, e não por simples hidrólise 392
O ATP doa grupos fosforil, pirofosforil e adenilil 394
A síntese de macromoléculas informacionais requer energia 395
O ATP energiza o transporte ativo e a contração muscular 395
▪ **Adendo14-3** *O relampear dos vaga-lumes: relatos brilhantes do ATP* 396
As transfosforilações entre os nucleotídeos ocorrem em todos os tipos de células 396
O polifosfato inorgânico é um doador potencial de grupos fosforil 397
As equações bioquímicas e químicas não são idênticas 398

Reações Biológicas de Oxidação-Redução 398
O fluxo de elétrons pode realizar trabalho biológico 398
Oxidação-redução pode ser descrita na forma de meia-reação 399
As oxidações biológicas freqüentemente envolvem desidrogenação 399
Os potenciais de redução medem a afinidade por elétrons 400
Os potenciais de redução padrão podem ser utilizados para calcular a variação de energia livre 401
A oxidação celular da glicose a dióxido de carbono requer transportadores de elétrons especializados 402
Poucos tipos de coenzimas e proteínas atuam como transportadores universais de elétrons 402
NADP e NADPH atuam com desidrogenases como transportadores de elétrons solúveis 402
Nucleotídeos de flavina são fortemente ligados a flavoproteínas 404

Resumo 405 Leitura Adicional 405 Problemas 406

15 A Glicólise e o Catabolismo das Hexoses 409

Glicólise 409
Uma visão geral: a glicólise possui duas fases 410
A fase preparatória da glicólise requer ATP 412
A fase de pagamento da glicólise produz ATP e NADH 415
O balanço final mostra um ganho líquido de ATP 417
Os intermediários são canalizados entre as enzimas glicolíticas 418
A glicólise é estreitamente regulada 419
Nos tecidos cancerosos o catabolismo da glicose está desordenado 419

Destinos do Piruvato em Condições Aeróbicas e Anaeróbicas 419
O piruvato é o receptor terminal de elétrons na fermentação do ácido láctico 419
Na fermentação alcoólica o etanol é o produto final reduzido 420
A tiamina pirofosfato transporta grupos "aldeído ativos" 420
As fermentações microbianas liberam outros produtos finais com valor comercial 420
▪ **Adendo 15-1** *Glicólise na presença de concentrações limitantes de oxigênio: atletas, jacarés e celacantos* 421
▪ **Adendo 15-2** *A fabricação de cerveja* 422

Vias Afluentes da Glicólise 423
O glicogênio e o amido são degradados por fosforólise 423
Outros monossacarídeos entram na via glicolítica em vários pontos 425
Os polissacarídeos e os dissacarídeos ingeridos na alimentação são hidrolisados em monossacarídeos 426

Regulação do Catabolismo dos Carboidratos 427
As enzimas reguladoras agem como válvulas metabólicas 427
A glicólise e gliconeogênese são reguladas de maneira coordenada 429
A fosfofrutoquinase-1 é controlada por regulação alostérica complexa 430
A hexoquinase é inibida alostericamente pelo seu produto 430
A piruvato quinase é inibida pelo ATP 431
▪ **Adendo 15-3** *Isoenzimas: proteínas diferentes que catalisam a mesma reação* 431
A fosforilase do glicogênio é regulada de forma alostérica e por meio de hormônios 432

A Via das Pentoses Fosfato de Oxidação da Glicose 433
▪ **Adendo 15-4** *Deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase: por que Pitágoras não comia falafel* 434

Resumo 435 Leitura Adicional 437 Problemas 438

16 O Ciclo do Ácido Cítrico 441

A Produção de Acetato 442
O piruvato é oxidado a acetil-CoA e CO_2 442
O complexo da piruvato desidrogenase requer cinco coenzimas 442
O complexo da piruvato desidrogenase consiste em três enzimas diferentes 443
Os intermediários permanecem ligados à superfície da enzima 444

Reações do Ciclo do Ácido Cítrico 444
O ciclo do ácido cítrico possui oito etapas 446
▪ **Adendo 16-1** *Sintases e sintetases; ligases e liases; quinases, fosfatases e fosforilases: Ufa!, Tantos nomes realmente confundem!* 448
A energia de oxidação é eficientemente conservada no ciclo 450
▪ **Adendo 16-2** *Citrato: uma molécula simétrica que reage assimetricamente* 451
Por que a oxidação do acetato é tão complicada? 452
Os componentes do ciclo do ácido cítrico são intermediários biossintetizantes importantes 453
As reações anapleróticas repõem os intermediários do ciclo do ácido cítrico 453
▪ **Adendo 16-3** *Citrato sintase, refrigerantes e o suprimento de alimentos para o mundo* 454
A biotina transporta grupos CO_2 na piruvato carboxilase 455

Regulação do Ciclo do Ácido Cítrico 455
A produção de acetil-CoA pelo complexo da piruvato desidrogenase é regulada por mecanismos alostéricos e covalentes 456
O ciclo do ácido cítrico é regulado na altura de seus três passos exergônicos 456

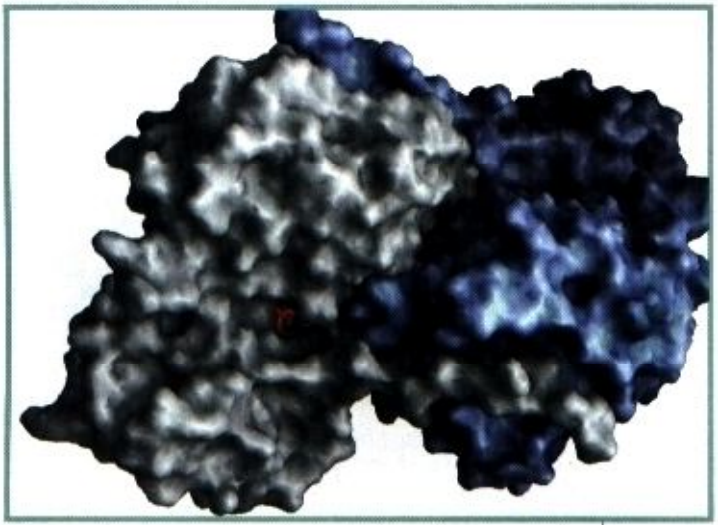
O Ciclo do Glioxalato 457
O ciclo do glioxalato produz compostos de quatro átomos de carbonos derivados do acetato 457
O ciclo do ácido cítrico e o ciclo do glioxalato são regulados de forma coordenada 458

Resumo 460 Leitura Adicional 460 Problemas 461

17 A Oxidação dos Ácidos Graxos 465

Digestão, Mobilização e Transporte dos Ácidos Graxos 466
As gorduras da dieta são absorvidas no intestino delgado 466
Alguns hormônios desencadeiam a mobilização dos triacilgliceróis armazenados 466
Os ácidos graxos são ativados e transportados para o interior das mitocôndrias 468

β-Oxidação 470
A β-oxidação dos ácidos graxos saturados possui quatro passos básicos 470
Os quatro passos são repetidos para produzir acetil-CoA e ATP 471
O acetil-CoA pode ser completamente oxidado por meio da via do ácido cítrico 472
▪ **Adendo 17-1** *Os ursos obesos realizam a β-oxidação durante seu período de hibernação* 472
A oxidação dos ácidos graxos insaturados requer duas reações adicionais 473
A oxidação completa de ácidos graxos de número ímpar requer três reações extras 474
▪ **Adendo 17-2** *Coenzima B_{12}: uma solução radical para um problema desconcertante* 475
A oxidação dos ácidos graxos é regulada de maneira estrita 477
A β-oxidação também ocorre nos peroxissomos 477
Os peroxissomos e os glioxissomos vegetais empregam o acetil-CoA produzido na β-oxidação como um precursor biossintético 478
As enzimas da β-oxidação nas diferentes organelas divergiram durante a evolução biológica 478
A ômega oxidação ocorre no retículo endoplasmático 478
Defeitos genéticos nas desidrogenases dos acil-CoA graxos causam doenças graves 478



página 490

Corpos Cetônicos 479
Os corpos cetônicos sintetizados no fígado são exportados para outros órgãos 480
Os tecidos extra-hepáticos usam os corpos cetônicos como combustível 480
Os corpos cetônicos são produzidos em excesso no diabetes e durante o jejum prolongado 481

Resumo 482 Leitura Adicional 483 Problemas 483

18 A Oxidação dos Aminoácidos e a Produção de Uréia 486

Destino Metabólico dos Grupos Amino 487
As proteínas dos alimentos ingeridos são enzimaticamente degradadas em aminoácidos 487
O piridoxal fosfato participa da transferência dos grupos α-amino até o α-cetoglutarato 489
O glutamato libera amônia no fígado 492
A glutamina transporta amônia na corrente sangüínea 492
▪ **Adendo 18-1** *Ensaios para o diagnóstico de lesões de tecidos* 462
A alanina transporta amônia dos músculos para o fígado 493
A amônia é tóxica para os animais 494

A Excreção do Nitrogênio e o Ciclo da Uréia 494
A uréia é produzida da amônia em cinco passos enzimáticos 494
O ciclo do ácido cítrico e o ciclo da uréia podem estar unidos 495
A atividade do ciclo da uréia é regulada em dois níveis 496
Interconexões entre as vias reduzem o custo energético da síntese da uréia 497
Defeitos genéticos no ciclo da uréia podem ameaçar a vida de seus portadores 497
O habitat determina a via de excreção do nitrogênio 498

Vias de Degradação dos Aminoácidos 498
Vários co-fatores enzimáticos desempenham papéis importantes no catabolismo dos aminoácidos 498
Dez aminoácidos são degradados até acetil-CoA 501
Em algumas pessoas, o catabolismo da fenilalanina é geneticamente defeituoso 505
Cinco aminoácidos são convertidos em α-cetoglutarato 506
Quatro aminoácidos são convertidos em succinil-CoA 507
Os aminoácidos de cadeia ramificada não são degradados no fígado 508
▪ **Adendo 18-2** *Detetives científicos resolvem um assassinato misterioso* 509
A asparagina e o aspartato são degradados até oxaloacetato 510
Alguns aminoácidos podem ser convertidos em glicose, outros em corpos cetônicos 511

Resumo 511 Leitura Adicional 512 Problemas 513

19 Fosforilação Oxidativa e Fotofosforilação 515

Fosforilação Oxidativa 515

Reações de Transferência de Elétrons na Mitocôndria 515
Os elétrons são canalizados para transportadores universais de elétrons 515
Os elétrons passam por uma série de transportadores ligados à membrana 516
Os transportadores de elétrons funcionam em complexos multienzimáticos 519
A energia da transferência dos elétrons é conservada eficientemente em um gradiente de prótons 524
As mitocôndrias das plantas possuem mecanismos alternativos para oxidar o NADH 526

A Síntese do ATP 526
- **Adendo 19-1** *Vias respiratórias alternativas e calor, plantas malcheirosas 527*

A ATP sintase possui dois domínios funcionais, F_o e F_1 529
O ATP é estabilizado em relação ao ADP, na superfície de F_1 529
O gradiente de prótons direciona a liberação do ATP da superfície da enzima 530
Cada subunidade β da ATP sintase pode assumir três configurações diferentes 530
A catálise rotacional é a chave para o mecanismo de mudança de ligação para a síntese do ATP 531
O acoplamento quimiosmótico acarreta uma estequiometria não inteira de consumo de O_2 e síntese do ATP 531
A força próton motriz energiza o transporte ativo 534
Sistemas de lançadeiras são requeridos para a oxidação mitocondrial do NADH citosólico 535

Regulação da Fosforilação Oxidativa 536
A fosforilação oxidativa é regulada pelas necessidades energéticas celulares 536
As mitocôndrias desacopladas no tecido adiposo marrom produzem calor 536
As vias produtoras do ATP são reguladas de uma maneira coordenada 536
Mutações em genes mitocondriais causam doença humana 538
As mitocôndrias provavelmente surgiram de bactérias endossimbióticas 539

Fotossíntese: Captura da Energia Luminosa 540

Características Gerais da Fotofosforilação 540
Nas plantas, a fotossíntese ocorre nos cloroplastos 541
A luz direciona o fluxo de elétrons nos cloroplastos 541

Absorção da Luz 541
A clorofila absorve energia luminosa para a fotossíntese 541
Os pigmentos acessórios ampliam o intervalo da absorção da luz 544
A clorofila canaliza a luz absorvida para os centros de reação por meio da transferência de excitons 544

O Evento Fotoquímico Central: O Fluxo de Elétrons Impulsionado pela Luz 545
As bactérias apresentam um de dois tipos de centros de reação fotoquímicos simples 546
Fatores cinéticos e termodinâmicos previnem a dissipação da energia por conversão interna 548
Nas plantas superiores, dois centros de reação atuam em seqüência 548
A separação espacial dos fotossistemas I e II impede a fuga de excitons 549
O complexo do citocromo b_6f une os fotossistemas I e II 550
A cianobactéria utiliza o complexo do citocromo b_6f e o citocromo c tanto na fosforilação oxidativa como na fotofosforilação 551
A água é dividida pelo complexo produtor de oxigênio 551

A Síntese de ATP pela Fosforilação 552
Um gradiente de prótons acopla o fluxo de elétrons e a fosforilação 553
A estequiometria aproximada da fotofosforilação já foi estabelecida 554
O fluxo cíclico de elétrons produz ATP mas não NADPH ou O_2 554
A ATP sintase dos cloroplastos é similar à da mitocôndria 554
Os cloroplastos provavelmente surgiram de cianobactérias endossimbióticas 554
Diversos organismos fotossintetizantes usam doadores de hidrogênio diferentes da água 555
Na bactéria halofílica, uma única proteína absorve luz e bombeia prótons para direcionar a síntese do ATP 555

Resumo 557 Leitura Adicional 558 Problemas 560

página 533

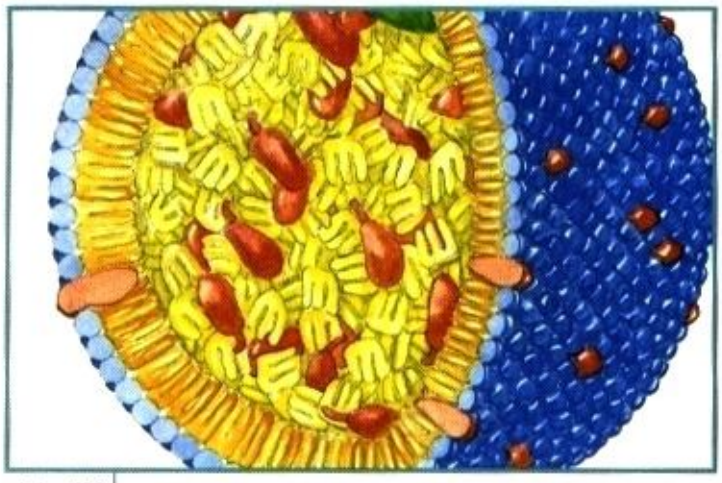
20 Biossíntese de Carboidratos 563

Gliconeogênese 563
A conversão do piruvato em fosfoenolpiruvato necessita de duas reações exergônicas 565
O segundo contorno é a conversão de frutose-1,6-difosfato em frutose-6-fosfato 567
A conversão da glicose-6-fosfato em glicose livre é o terceiro contorno 567
A gliconeogênese é energeticamente custosa 567
Os metabólicos intermediários do ciclo do ácido cítrico e muitos aminoácidos são glicogênicos 568
Os ciclos fúteis do metabolismo dos carboidratos consomem ATP 568
A gliconeogênese e a glicólise são reguladas reciprocamente 569
Nas sementes em germinação a gliconeogênese converte gorduras e proteínas em glicose 570

Biossíntese do Glicogênio, Amido, Sacarose e Outros Carboidratos 571
O substrato para a síntese do glicogênio é a UDP-glicose 573
A glicogênio sintase e a glicogênio fosforilase são reciprocamente reguladas 573
O substrato para a síntese do amido nos vegetais e para a síntese do glicogênio nas bactérias é a ADP-glicose 575
A UDP-glicose é o substrato para a síntese da sacarose nos vegetais 576
A síntese da lactose é regulada de maneira singular 576
A UDP-glicose é um intermediário na formação do glicuronato e da vitamina C 577
Compostos carboidrato-nucleotídeo são os precursores empregados na síntese da parede celular de bactérias 579
- **Adendo 20-1** *A penicilina e a β-lactamase: A bala mágica contra o colete à prova de balas* 580

Fotossíntese dos Carboidratos 580
A assimilação do CO_2 ocorre em três estágios 581
Cada triose fosfato sintetizada a partir de CO_2 custa seis NADPH e nove ATP 586
Um sistema de transporte do cloroplasto exporta trioses fosfato e importa fosfato 588

Regulação do Metabolismo dos Carboidratos em Vegetais 588
A enzima rubisco é submetida à regulação tanto positiva quanto negativa 588
Algumas enzimas do ciclo de Calvin são ativadas indiretamente pela luz 588
Nos vegetais o emprego das trioses fosfato para a síntese da sacarose e de amido é estreitamente regulado 591
A fotorrespiração resulta da atividade oxigenase da rubisco 592



página 628

Algumas plantas possuem um mecanismo para minimizar a fotorrespiração 592

Resumo 594 Leitura Adicional 595 Problemas 596

21 Biossíntese de Lipídios 599

Biossíntese dos Ácidos Graxos e dos Eicosanóides 599

O malonil-CoA é sintetizado a partir do acetil-CoA e do bicarbonato 599
Os ácidos graxos são sintetizados por uma seqüência repetitiva de reações 599
O complexo da ácido graxo sintase tem sete sítios ativos diferentes 600
A ácido graxo sintase recebe os grupos acetil e malonil 601
As reações da ácido graxo sintase são repetidas para formar o palmitato 604
A ácido graxo sintase de alguns organismos é constituída de proteínas multifuncionais 604
A síntese de ácidos graxos ocorre no citosol de muitos organismos, mas nos vegetais ela ocorre nos cloroplastos 605
O acetato é transportado para fora da mitocôndria na forma de citrato 606
A biossíntese dos ácidos graxos é regulada rigorosamente 606
Os ácidos graxos saturados de cadeia longa são sintetizados a partir do palmitato 608
Alguns ácidos graxos são dessaturados 608
Os eicosanóides são formados a partir de ácidos graxos poliinsaturados com 20 carbonos 609
▪ **Adendo 21-1** *Oxidases de função mista, oxigenases e citocromo P-450* 610

Biossíntese dos Triacilgliceróis 610

Os triacilgliceróis e os glicerofosfolipídios são sintetizados a partir dos mesmos precursores 611
▪ **Adendo 21-2** *Cicloxigenases isozimas e a pesquisa por uma aspirina melhor: o alívio está no sítio ativo* 614
Nos animais a biossíntese dos triacilgliceróis é regulada por hormônios 616

Biossíntese dos Fosfolipídios de Membranas 616

Existem duas estratégias para a ligação dos grupos cabeça 617
A síntese dos fosfolipídios na *E. coli* emprega o CDC-diacilglicerol 618
Os eucariotos sintetizam fosfolipídios aniônicos a partir do CDP-diacilglicerol 619
Nos eucariotos as vias de síntese de fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilcolina são inter-relacionadas 619
A síntese do plasmalogênio requer a formação de uma ligação éter com um álcool graxo 620
A síntese de esfingolipídios e glicerofosfolipídios compartilha precursores e alguns mecanismos 620
Lipídios polares são direcionados para membranas celulares específicas 621

Biossíntese do Colesterol, dos Esteróides e dos Isoprenóides 621

A biossíntese do colesterol a partir do acetil-CoA tem quatro estágios 624
O colesterol tem vários destinos 629
O colesterol e outros lipídios são transportados pelas lipoproteínas do plasma 628
▪ **Adendo 21-3** *Os alelos da apolipoproteína E predizem a incidência da doença de Alzheimer* 630
Os ésteres de colesterol entram nas células por endocitose mediada por receptores 631
A biossíntese do colesterol é regulada por vários fatores 632
Os hormônios esteróides são formados pela clivagem da cadeia lateral e oxidação do colesterol 633
Os intermediários na biossíntese do colesterol têm muitos destinos alternativos 634

Resumo 635 Leitura Adicional 636 Problemas 637

22 Biossíntese de Aminoácidos, Nucleotídeos e Moléculas Relacionadas 639

Visão Geral do Metabolismo do Nitrogênio 639

O ciclo do nitrogênio mantém parte da massa desse elemento em compostos biologicamente disponíveis 640
O nitrogênio é fixado por enzimas do complexo da nitrogenase 640
A amônia é incorporada nas biomoléculas por meio da glutamina e do glutamato 643
A glutamina sintetase é um ponto primário de regulação do metabolismo do nitrogênio 643
Várias classes de reações desempenham papéis especiais na biossíntese dos aminoácidos e dos nucleotídeos 644

Biossíntese dos Aminoácidos 645

O α-cetoglutarato dá origem ao glutamato, à glutamina, à prolina e à arginina 647
Serina, glicina e cisteína são derivadas do 3-fosfoglicerato 647
Três aminoácidos não-essenciais e seis essenciais são sintetizados do oxaloacetato e do piruvato 650
Corismato é um intermediário-chave na síntese do triptofano, da fenilalanina e da tirosina 650
A biossíntese da histidina emprega precursores da biossíntese de purinas 651
A biossíntese de aminoácidos é regulada de forma alostérica 651

Moléculas Derivadas dos Aminoácidos 651

A glicina é um precursor das porfirinas 656
A degradação do heme forma os pigmentos biliares 656
▪ **Adendo 22-1** *Bioquímica de reis e de vampiros* 659
Os aminoácidos são necessários para a biossíntese da creatina e da glutationa 660
D-Aminoácidos são encontrados primariamente em bactérias 660
Os aminoácidos aromáticos são precursores de muitas substâncias vegetais 660
Os aminoácidos são convertidos em aminas biológicas por decarboxilação 661
A arginina é o precursor empregado na síntese biológica do óxido nítrico 662
▪ **Adendo 22-2** *Curando a doença do sono africana com um "cavalo de Tróia" bioquímico* 664

Biossíntese e Degradação dos Nucleotídeos 666

A síntese "de novo" das purinas começa com o fosforribosilpirofosfato (PRPP) 666

A biossíntese dos nucleotídeos purínicos é regulada pela retroalimentação 668
Os nucleotídeos pirimidínicos são sintetizados a partir de aspartato, PRPP e carbomil fosfato 669
A biossíntese dos nucleotídeos pirimidínicos é regulada por inibição por retroalimentação 670
Os nucleosídeos monofosfato são convertidos em nucleosídeos trifosfato 670
Os ribonucleotídeos são precursores dos desoxirribonucleotídeos 671
O timidilato é derivado do dCDP e dUMP 672
A degradação das purinas e pirimidinas produz ácido úrico e uréia, respectivamente 674
As bases purínicas e pirimidínicas são recicladas por vias de recuperação 675
A superprodução de ácido úrico é a causa da gota 676
Muitos agentes quimioterápicos atuam em enzimas das vias biossintetizantes de nucleotídeos 677

Resumo 679 Leitura Adicional 680 Problemas 681

23 Integração e Regulação Hormonal do Metabolismo dos Mamíferos 682

Metabolismo Tecido-Específico: A Divisão de Trabalho 682
O fígado processa e distribui nutrientes 682
O tecido adiposo armazena e fornece ácidos graxos 685
Os músculos usam o ATP para o trabalho mecânico 686
O cérebro usa a energia para a transmissão dos impulsos elétricos 687
O sangue transporta oxigênio, metabólitos e hormônios 688

Regulação Hormonal do Metabolismo Energético 689
A adrenalina sinaliza a atividade iminente 689
O glucagon sinaliza a glicose sangüínea baixa 690
Durante o jejum, curto ou prolongado, o metabolismo altera-se para fornecer combustível para o cérebro 690
A insulina sinaliza a glicose sangüínea alta 692
O cortisol sinaliza o estresse, incluindo a glicose sangüínea baixa 692
O diabetes é uma deficiência na produção ou na ação da insulina 692

Hormônios: Estruturas Diversas para Diferentes Funções 693
A descoberta e a purificação de um hormônio requerem um ensaio biológico 694
▪ **Adendo 23-1** *Como um hormônio é descoberto? O árduo caminho na purificação da insulina* 695
Hormônios agem por meio de receptores celulares específicos de alta afinidade 696
Os hormônios são moléculas quimicamente diversas 697
O que regula os reguladores? 700

Regulação a Longo Prazo da Massa Corporal 703
A leptina foi prevista pela teoria lipostática 703
Muitos fatores regulam o comportamento alimentar e o gasto de energia 704
A leptina desencadeia uma cascata regulatória 704

Resumo 706 Leitura Adicional 707 Problemas 708

IV Vias da Informação 711

24 Genes e Cromossomos 713

Elementos Cromossômicos 713
Genes são segmentos de DNA que codificam cadeias polipeptídicas e RNAs 713
Os cromossomos eucarióticos são muito complexos 714
Muitos genes eucarióticos contêm seqüências intercaladas não-traduzíveis (íntrons) 715

O Tamanho e a Seqüência Estrutural das Moléculas do DNA 716
As moléculas do DNA viral são relativamente pequenas 716
As bactérias contêm DNA cromossômico e extracromossômico 717
As células eucarióticas contêm mais DNA do que as procarióticas 718
As organelas das células eucarióticas também contêm DNA 719

Superespiralamento do DNA 719
A maior parte do DNA celular está subenrolado 720
O DNA subenrolado é definido pelo número de ligação topológica 722
As topoisomerases catalisam alterações no número de ligação do DNA 723
A compactação do DNA requer uma forma especial de superespiralamento 725

Cromatina e a Estrutura Nucleóide 725
As histonas são proteínas básicas pequenas 726
Os nucleossomos são as unidades organizacionais fundamentais da cromatina 726
Os nucleossomos são empacotados em estruturas sucessivamente mais ordenados 728
O DNA bacteriano também é altamente organizado 729

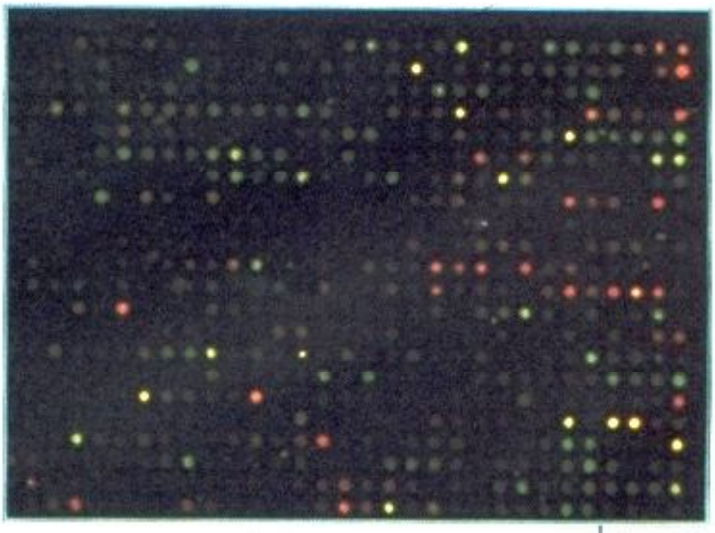
Resumo 730 Leitura Adicional 731 Problemas 732

25 Metabolismo do DNA 733

Uma Palavra sobre Terminologia 734

Replicação do DNA 735
A replicação do DNA é governada por um conjunto de regras fundamentais 735
O DNA é degradado por nucleases 737
O DNA é sintetizado pela DNA polimerase 737
A replicação é muito precisa 738
A *E. coli* possui pelo menos cinco DNA polimerases 738
A replicação do DNA requer muitas enzimas e fatores protéicos 741
A replicação do cromossomo da *E. coli* procede em etapas 741
A replicação nas células eucarióticas é mais complexa 745

Reparo do DNA 747
As mutações são ligadas ao câncer 747
Todas as células possuem múltiplos sistemas de reparo do DNA 747
▪ **Adendo 25-1** *Reparo do DNA e câncer* 750
A interação das forquilhas de replicação com o DNA lesado leva à recombinação ou ao reparo sujeito a erros 754



Recombinação do DNA 755
A recombinação genética homóloga possui funções múltiplas 755
A recombinação durante a meiose é iniciada com quebras das fitas duplas 757
A recombinação requer enzimas específicas 758
Todos os aspectos do metabolismo do DNA reúnem-se para reparar as forquilhas de replicação paradas 759
A recombinação sítio-específica resulta em rearranjos precisos do DNA 760
A replicação completa do cromossomo pode requerer recombinação sítio-específica 763
Elementos genéticos transponíveis se movem de uma localização para outra 763
Os genes da imunoglobulina são montados pela recombinação 766

Resumo 767 Leitura Adicional 768 Problemas 769

26 Metabolismo do RNA 771

Síntese de RNA Dependente de DNA 772
O RNA é sintetizado pelas RNA polimerases 772
A síntese de RNA é iniciada nos promotores 774
▪ **Adendo 26-1** *A RNA polimerase deixa a sua pegada em um promotor* 775
A transcrição é regulada 776
Seqüências específicas sinalizam a terminação da síntese de RNA 776
As células eucarióticas possuem três espécies de RNA polimerases nucleares 777
A RNA polimerase II requer muitos outros fatores protéicos para sua atividade 777
A RNA polimerase direcionada por DNA pode ser inibida seletivamente 779

Processamento do RNA 779
Os íntrons transcritos no RNA são removidos pela emenda 781
O RNA catalisa a emenda 781
Os mRNAs eucarióticos sofrem processamento adicional 785
Múltiplos produtos são derivados de um gene pelo processamento diferencial do RNA 787
Os RNAs ribossômicos e de transferência também sofrem processamento 787
Alguns eventos no metabolismo do RNA são catalisados por enzimas de RNA 790
Os mRNAs celulares são degradados em velocidades diferentes 792
A polinucleotídeo fosforilase sintetiza polímeros do tipo RNA aleatoriamente 793

Síntese de RNA e DNA Dependente de RNA 793
A transcriptase reversa produz DNA a partir do RNA viral 793
Os retrovírus causam o câncer e a AIDS 795
Muitos transposons, retrovírus e íntrons podem ter uma origem evolucionária comum 795
▪ **Adendo 26-2** *Lutando contra a AIDS com inibidores da transcriptase reversa do HIV* 796
A telomerase é uma transcriptase reversa especializada 797
Alguns RNAs virais são replicados pela RNA polimerase dependente de RNA 799
A síntese de RNA oferece importantes pistas para a evolução bioquímica 799

Resumo 802 Leitura Adicional 802 Problemas 803

27 Metabolismo das Proteínas 805

O Código Genético 805
O código genético foi decifrado usando moldes de mRNA artificiais 806
▪ **Adendo 27-1** *Deslocamento da janela de tradução e editoração do RNA: mRNAs que mudam as regras no meio do jogo* 810
A oscilação permite que alguns tRNAs reconheçam mais de um códon 812
Genes sobrepostos em janelas de leitura diferentes são encontrados em alguns DNAs virais 813
▪ **Adendo 27-2** *Variações naturais no código genético* 814

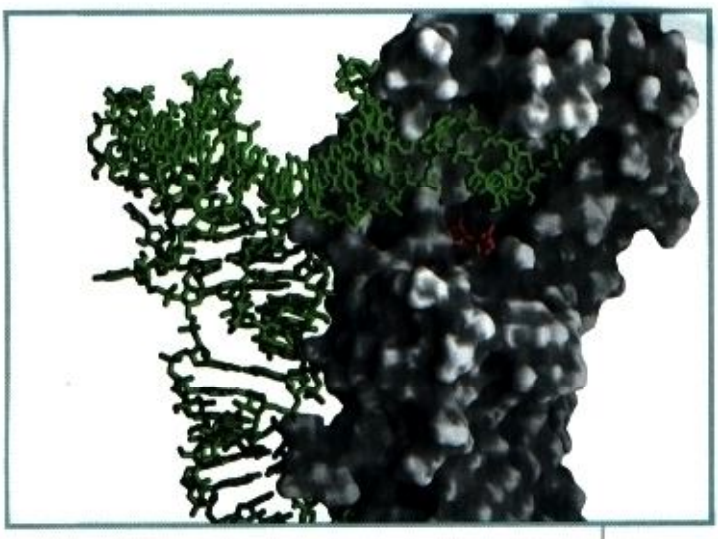
Síntese Protéica 816
O ribossomo é uma máquina supramolecular complexa 817
Os tRNAs possuem características estruturais próprias 816
Etapa 1: As aminoacil-tRNAs sintetases ligam os aminoácidos corretos aos seus tRNAs 821
Etapa 2: Um aminoácido específico inicia a síntese de proteínas 822
Etapa 3: As ligações peptídicas são formadas na etapa de alongamento 826
Etapa 4: A terminação da síntese polipeptídica requer um sinal especial 828
▪ **Adendo 27-3** *Variação induzida no código genético: supressão sem sentido* 829
Etapa 5: As recém-sintetizadas cadeias polipeptídicas sofrem enovelamento e processamento 829
A síntese de proteínas é inibida por muitos antibióticos e toxinas 832

Endereçamento e Degradação das Proteínas 833
A modificação pós-traducional de muitas proteínas eucarióticas começa no retículo endoplasmático 834
A glicosilação desempenha um papel-chave no endereçamento das proteínas 834
As proteínas são endereçadas às mitocôndrias e aos cloroplastos por vias semelhantes 837
As seqüências sinalizadoras para o transporte nuclear não são clivadas 838
As bactérias também usam seqüências sinalizadoras para o endereçamento das proteínas 839
As células importam proteínas pela endocitose mediada por receptores 840
A degradação protéica em todas as células é mediada por sistemas especializados 840

Resumo 842 Leitura Adicional 843 Problemas 843

28 Regulação da Expressão Gênica 846

Princípios da Regulação Gênica 847
A RNA polimerase liga-se ao DNA nos promotores 847
A iniciação da transcrição é regulada por proteínas que se ligam aos promotores ou próximos a eles 848
A maioria dos genes procarióticos é regulada em unidades chamadas operons 846
O operon *lac* está sujeito à regulação negativa 847



página 823

Proteínas reguladoras possuem domínios discretos de ligação ao DNA 850
Proteínas reguladoras também possuem domínios de interação proteína-proteína 854

Regulação da Expressão Gênica nos Procariotos 856
O operon *lac* está submetido à regulação positiva 856
O operon *ara* submete-se tanto à regulação positiva quanto à negativa por uma única proteína reguladora 857
Muitos genes para a biossíntese dos aminoácidos são regulados pela atenuação da transcrição 858
A indução da resposta SOS requer a destruição das proteínas repressoras 862
A síntese das proteínas ribossômicas é coordenada com a síntese de rRNA 862
Alguns genes são regulados por recombinação genética 864

Regulação da Expressão Gênica nos Eucariotos 864
A cromatina transcricionalmente ativa é estruturalmente distinta da cromatina inativa 865
Modificações aumentam a acessibilidade ao DNA 865
A cromatina é remodelada pela acetilação e por deslocamentos nucleossomais 866
Muitos promotores eucarióticos são regulados positivamente 866
A ligação ao DNA de transativadores e co-ativadores facilita a montagem dos fatores gerais de transcrição 867
Três classes de proteínas são envolvidas na ativação da transcrição 867
Os genes requeridos para o metabolismo da galactose na levedura estão sujeitos tanto à regulação positiva quanto à negativa 868
Transativadores de ligação ao DNA possuem uma estrutura modular 869
A expressão gênica eucariótica pode ser regulada por sinais intercelulares e intracelulares 870
A regulação pode ocorrer por meio da fosforilação de fatores de transcrição nuclear 871
Muitos mRNAs eucarióticos estão submetidos à repressão traducional 871
O desenvolvimento é controlado por uma cascata de proteínas reguladoras 872

Resumo 876 Leitura Adicional 877 Problemas 878

29 Tecnologia do DNA Recombinante 880

Clonagem do DNA: O Básico 880
As endonucleases de restrição e a DNA ligase produzem o DNA recombinante 881
Vetores de clonagem permitem a amplificação de segmentos de DNA insertados 884

Isolando um Gene de um Cromossomo Celular 886
Clonar um gene freqüentemente requer um biblioteca de DNA 886
Seqüências específicas de DNA podem ser amplificadas 887
A hibridização permite a detecção de seqüências específicas 888
Matrizes de DNA fornecem bibliotecas compactas para o estudo dos genes e suas expressões 888

página 901

▪ **Adendo 29-1** *Uma potente arma na medicina forense* 890

Aplicações da Tecnologia do DNA Recombinante 891
Genes clonados podem ser expressos 893
Genes clonados podem ser alterados 894
A levedura é um hospedeiro eucariótico importante para o DNA recombinante 894
Grandes segmentos de DNA podem ser clonados em cromossomo artificial de levedura 894
▪ **Adendo 29-2** *O genoma humano e a terapia gênica humana* 897
A clonagem nas plantas é ajudada por um parasita bacteriano de planta 898
A clonagem em células animais aponta o caminho para a terapia gênica humana 902
A tecnologia do DNA recombinante produz novas escolhas e produtos 903

Resumo 904 Leitura Adicional 905 Problemas 906

Apêndice A Abreviações Comuns na Literatura da Pesquisa Bioquímica 909

Apêndice B Soluções Resumidas dos Problemas 912

Créditos das Ilustrações 931

Glossário 937

Índice Remissivo 955

Parte I

Fundamentos de Bioquímica

1 **A Lógica Molecular da Vida**
2 **Células**
3 **Biomoléculas**
4 **Água**

Página de adorno

A nebulosa de Órion é uma tremenda nuvem de gás na qual muitas estrelas quentes e jovens estão evoluindo rapidamente em direção a explosões cósmicas cataclísmicas, chamadas supernovas. A energia liberada por explosões nucleares em tais supernovas produz a fusão de núcleos atômicos simples, formando os elementos químicos mais complexos com os quais são compostas a Terra, sua atmosfera e todas as formas de vida.

Quinze a vinte bilhões de anos atrás, o universo nasceu com uma explosão cataclísmica que lançou, em todo o espaço, partículas subatômicas quentes e ricas em energia. Dentro de segundos, formaram-se os elementos mais simples (hidrogênio e hélio). À medida que o universo se expandia e esfriava, as galáxias condensavam-se sob a influência da gravidade. Dentro dessas galáxias, formaram-se estrelas enormes, que depois explodiram como supernovas, liberando a energia necessária para fundir os núcleos atômicos mais simples naqueles de elementos mais complexos. Dessa forma, foram produzidos, ao longo de bilhões de anos, os elementos químicos encontrados na Terra. Aproximadamente há quatro bilhões de anos originou-se a vida — microrganismos simples com habilidade de extrair energia de compostos orgânicos ou da luz solar, que eles usaram para fazer uma grande variedade de **biomoléculas** complexas a partir de elementos simples e de compostos da superfície terrestre. A bioquímica procura descobrir como os milhares de biomoléculas diferentes, formadas com esses elementos, interagem entre si, para conferir aos organismos vivos as notáveis propriedades que lhes são características.

Na Parte I, faremos o sumário das bases biológicas e químicas da bioquímica. Os organismos vivos operam de acordo com as mesmas leis físicas que se aplicam a todos os processos naturais, portanto vamos começar discutindo aquelas leis e os vários axiomas que delas nascem (Capítulo 1). Esses axiomas constituem a lógica molecular da vida. Eles definem os meios pelos quais as células transformam a energia para realizar trabalho, catalisam as transformações químicas que as tornam típicas, fazem a montagem de moléculas de grande complexidade a partir de subunidades simples, formam complexos supramoleculares que constituem a maquinaria da vida, guardam e transmitem as instruções para a organização de todas as gerações futuras de organismos a partir de precursores simples e não vivos.

As células, unidades de todos os organismos vivos, têm em comum certas características; mas as células de organismos diferentes e os vários tipos celulares dentro de um mesmo organismo são muito diferentes em estrutura e função. O Capítulo 2 é uma breve descrição das características comuns e das diferentes especializações das células, e dos processos evolucionários que levaram a tal diversidade.

Quase todos os compostos orgânicos, dos quais os organismos vivos são formados, são produtos da atividade biológica. Essas **biomoléculas** foram selecionadas durante o curso da evolução pela sua adequação em executar funções bioquímicas ou celulares específicas. As biomoléculas podem ser caracterizadas e entendidas nos mesmos termos que se aplicam às molé-

culas da matéria inanimada: os tipos de ligações entre os átomos, os fatores que contribuem para a formação dessas ligações e a força delas, a estrutura tridimensional das moléculas e as reatividades químicas. A estrutura tridimensional das moléculas é especialmente importante na bioquímica; a especificidade das interações biológicas, como aquelas entre enzima e substrato, anticorpo e antígeno, hormônio e receptor, é conseguida por uma estreita complementaridade estérica entre as moléculas. Proeminentes entre as forças que estabilizam a estrutura tridimensional estão as interações não-covalentes, individualmente fracas, porém com efeito cumulativo significativo na estrutura das macromoléculas biológicas. O Capítulo 3 apresenta as bases químicas para as discussões posteriores da estrutura, catálise e interconversões metabólicas de classes individuais de biomoléculas.

A água é o meio no qual as primeiras células apareceram; e o solvente, no qual ocorre a maioria das reações e transformações bioquímicas. As propriedades da água têm dado forma ao curso da evolução e exercido uma influência decisiva na estrutura das biomoléculas em solução aquosa. Muitas das interações fracas entre e no interior de biomoléculas são fortemente afetadas pelas propriedades solventes da água. Até mesmo componentes celulares insolúveis na água, como os lipídios, componentes das membranas celulares, interagem entre si de forma determinada pelas propriedades polares da água. No Capítulo 4 consideraremos as propriedades da água, as interações fracas não-covalentes que ocorrem nas soluções aquosas de biomoléculas, a ionização da água e de solutos em solução aquosa.

Estes capítulos iniciais têm a intenção de fornecer as bases químicas para as discussões posteriores sobre as reações e estruturas bioquímicas, de forma que, qualquer que seja sua formação e conhecimento em química ou biologia, você pode começar desde já a entender e a apreciar os assuntos aqui apresentados.

CAPÍTULO 1

A Lógica Molecular da Vida

Os organismos vivos são compostos de moléculas destituídas de vida. Quando essas moléculas são isoladas e examinadas individualmente, elas obedecem a todas as leis físicas e químicas que descrevem o comportamento da matéria inanimada. Não obstante, os organismos vivos possuem atributos extraordinários que não são exibidos por uma coleção de moléculas escolhidas ao acaso. Neste capítulo, consideraremos primeiro as propriedades dos organismos vivos que os distinguem de outras porções da matéria. Depois de chegarmos a uma definição geral da vida, poderemos descrever um conjunto de princípios que caracterizam todos os organismos vivos. Esses princípios fundamentam a organização dos organismos e das células que os constituem e fornecem a base para a estrutura deste livro. Eles ajudarão você a ter em mente o grande quadro da vida enquanto explora os exemplos ilustrativos apresentados no texto.

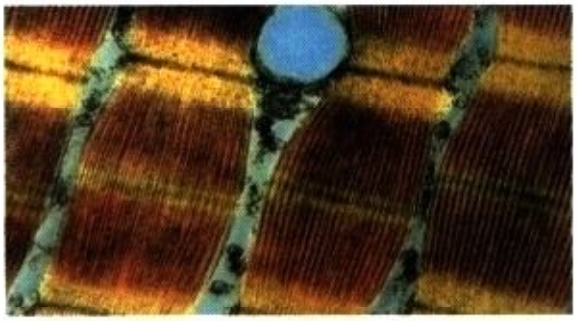
A Unidade Química dos Diferentes Organismos Vivos

O que distingue os organismos vivos dos objetos inanimados? Primeiro é seu grau de complexidade química e de organização. Eles possuem estruturas celulares internas intrincadas (Fig. 1-1a) e contêm muitas espécies de moléculas complexas. Em contraste, a matéria inanimada existente em nosso meio — terra, areia, rochas, água do mar — usualmente consiste de misturas de compostos químicos relativamente simples.

Segundo, os organismos vivos extraem, transformam e usam a energia que encontram no meio ambiente (Fig. 1-1b), habitualmente na forma de nutrientes químicos ou de energia radiante da luz solar. Essa energia torna os organismos vivos capazes de construir e manter suas próprias estruturas intrincadas e de realizar trabalho mecânico, químico, osmótico e de vários outros tipos. Em contraste, a matéria inanimada não usa a energia de forma sistemática para manter a sua estrutura ou para realizar trabalho. A matéria inanimada tende a se degenerar em um estado mais desordenado, alcançando um equilíbrio com o seu meio ambiente.

O terceiro e mais característico atributo dos organismos vivos é a capacidade para a auto-replicação e automontagem, propriedades que podem ser vistas como a quinta-essência do estado vivo (Fig. 1-1c). Uma única célula bacteriana colocada num meio nutriente estéril pode dar origem a um bilhão de células filhas idênticas, no espaço de 24 horas. Cada uma das células contém milhares de moléculas diferentes, algumas extremamente complexas; mesmo assim, cada bactéria é uma cópia fiel da original, construída inteiramente a partir da informação contida no interior do material genético da célula original.

Embora a capacidade de autoduplicar-se não tenha nenhum análogo verdadeiro no mundo da matéria inanimada, existe uma analogia instrutiva no crescimento de cristais, que ocorre nas soluções saturadas. A cristalização produz acréscimo de material idêntico, em estrutura de rede, ao do cristal original. Os cristais são muito menos complexos do que os mais simples organismos vivos, suas estruturas são estáticas e não dinâmicas, como as das células vivas. Não obstante, a capacidade de os cristais "reproduzirem" sua própria estrutura permitiu ao físico Erwin Schrödinger propor, em seu famoso ensaio "O que é a vida?", que o material genético das células deveria ter as propriedades de um cristal. Esse ensaio de Schrödinger é de 1944 (anos antes



(a)

(b)

(c)

Figura 1-1 – Algumas características da matéria viva. (**a**) Visto ao microscópio eletrônico, esse pedaço de tecido muscular de vertebrado evidencia sua complexidade e organização. (**b**) O falcão adquire nutrientes pela ingestão de pássaros menores. (**c**) A reprodução biológica ocorre com fidelidade próxima da perfeição.

Erwin Schrödinger (1887-1961)

do atual entendimento da estrutura do gene ter sido estabelecido), mas descreve de forma acurada muitas das propriedades do ácido desoxirribonucléico, o material dos genes.

Cada componente de um organismo vivo tem uma função específica. Isso é verdade não somente para as estruturas macroscópicas, como folhas e caules ou corações e pulmões, mas também para as estruturas intracelulares microscópicas, como os núcleos e os cloroplastos. Até mesmo os compostos químicos individuais, existentes nas células, têm funções específicas. O inter-relacionamento entre os componentes químicos de um organismo vivo é dinâmico; alterações em um componente provocam mudanças coordenadas ou compensatórias em outro, tendo como resultado o conjunto exibindo características que vão além daquelas exibidas pelos constituintes individuais. A coleção de moléculas executa um programa, cujo resultado final é a reprodução do programa e a autoperpetuação daquela coleção de moléculas, em suma, vida.

A bioquímica procura explicar a vida em termos químicos

Se os organismos vivos são compostos de moléculas intrinsecamente inanimadas, como podem essas moléculas exibir a extraordinária combinação de características que chamamos de vida? Como pode ser que um organismo vivo pareça ser mais do que a soma de suas partes inanimadas? Os filósofos, uma vez, responderam que os organismos vivos são dotados de uma força vital divina e misteriosa, mas essa doutrina (vitalismo) tem sido firmemente rejeitada pela ciência moderna. O objetivo básico da ciência bioquímica é mostrar como as coleções de moléculas inanimadas, que constituem os organismos vivos, interagem entre si para manter e perpetuar a vida animada, exclusivamente pelas leis químicas que governam o universo não vivo.

Organismos vivos são enormemente diferentes (Fig. 1-2). Na aparência e função, pássaros e bestas, árvores, gramas e organismos microscópicos diferem grandemente. Até o momento, pesquisas bioquímicas revelam que todos os organismos são notadamente semelhantes em níveis celular e químico. Bioquímica descreve em termos moleculares as estruturas, os mecanismos e os processos químicos compartilhados por todos os organismos, e fornece os princípios organizacionais que fundamentam a vida em todas as suas diferentes formas, princípios esses que coletivamente serão referidos como *a lógica molecular da vida*. Embora a bioquímica produza importantes visões do conhecimento e das aplicações práticas em medicina, agricultura, nutrição e indústria, ela está, em última instância, preocupada e interessada na maravilha que a vida é em si mesma.

Embora a vida seja fundamentalmente unitária, é importante reconhecer que pouquíssimas generalizações a respeito dos organismos vivos são absolutamente corretas para todos eles e sob quaisquer condições. A variação de habitat nos quais os organismos vivem, desde fontes termais quentes até tundra ártica, de intestinos de animais a dormitórios de residências estudantis, é acompanhada por uma variação igualmente ampla de adaptações bioquímicas específicas. Essas adaptações são integradas em um padrão químico fundamental, compartilhado por todos os organismos. Embora as generalizações não sejam perfeitas, elas permanecem úteis. De fato, as exceções geralmente iluminam as generalizações científicas.

Figura 1-2 – Organismos vivos diferentes compartilham características químicas iguais. Pássaros, animais, plantas e microrganismos do solo compartilham com o homem as mesmas unidades estruturais básicas (células), os mesmos tipos de macromoléculas (DNA, RNA, proteínas) construídas com os mesmos tipos de unidades monoméricas (nucleotídeos, aminoácidos). Utilizam as mesmas vias para a síntese de componentes celulares, compartilham o mesmo código genético e os mesmos ancestrais evolucionários. ("O jardim do Éden" (detalhe), por Jan van Kessel, O Jovem (1626-1679).)

Todas as macromoléculas são construídas a partir de poucos compostos simples

A maioria dos constituintes moleculares dos sistemas vivos é composta de átomos de carbono unidos covalentemente a outros átomos de carbono e a átomos de hidrogênio, oxigênio e nitrogênio. As propriedades especiais de ligação do carbono permitem a formação de uma grande variedade de moléculas. Os compostos orgânicos de peso molecular (também chamado de massa molecular relativa, M_r)[1] menor que aproximadamente 500, como aminoácidos, nucleotídeos e monossacarídeos, servem como **subunidades monoméricas** de proteínas, ácidos nucléicos e polissacarídeos, respectivamente. Uma única molécula protéica pode ter 1.000 ou mais aminoácidos, e o ácido desoxirribonucléico tem milhões de nucleotídeos.

Cada célula da bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*) contém mais de 6.000 tipos diferentes de compostos orgânicos, incluindo perto de 3.000 proteínas diferentes e um número similar de moléculas de ácidos nucléicos e centenas de tipos de carboidratos e lipídios. Em humanos pode haver dezenas de milhares de tipos diferentes de proteínas, assim como muitos tipos de polissacarídeos (cadeias de açúcares simples), uma grande variedade de lipídios e muitos outros compostos de peso molecular menor.

Purificar e caracterizar exatamente todas essas moléculas seria um trabalho insuperável se não fosse o fato de cada classe de **macromoléculas** (proteínas, ácidos nucléicos, polissacarídeos) ser composta de um pequeno conjunto de subunidades monoméricas comuns. Essas subunidades monoméricas podem ser unidas covalentemente em uma variedade virtualmente ilimitada de seqüências (Fig. 1-3), exatamente como as 26 letras do alfabeto inglês podem ser arranjadas em um número ilimitado de palavras, sentenças ou livros.

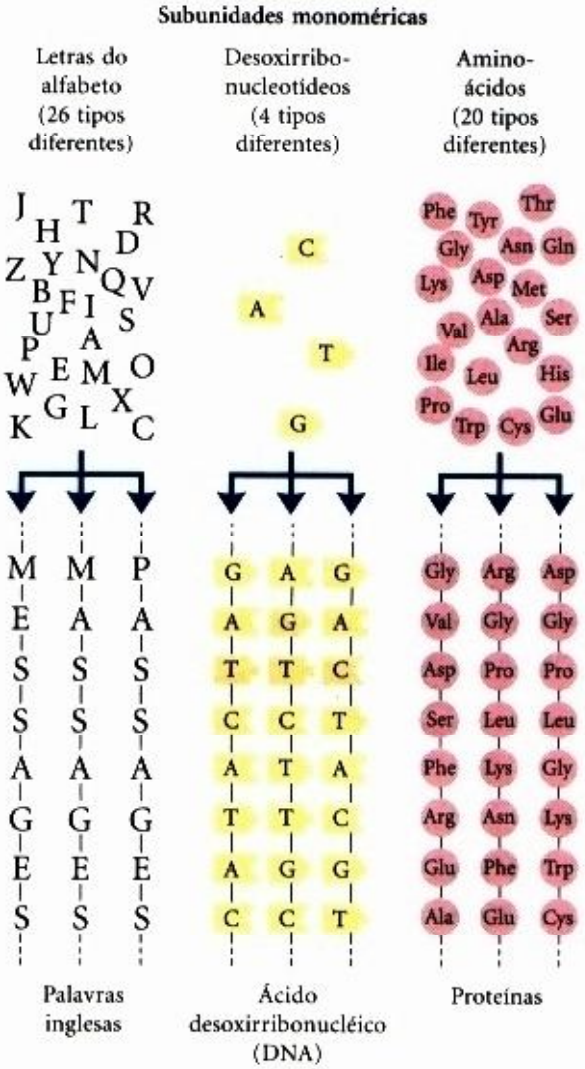
Os **ácidos desoxirribonucléicos** (DNA) são constituídos de apenas quatro tipos diferentes de unidades monoméricas simples, os desoxirribonucleotídeos; e os **ácidos ribonucléicos** (RNA) são compostos por apenas quatro tipos de ribonucleotídeos. As **proteínas** são compostas de 20 tipos diferentes de aminoácidos. Os oito tipos de nucleotídeos com os quais todos os ácidos nucléicos são constituídos e os 20 tipos de aminoácidos com os quais todas as proteínas são constituídas são idênticos em todos os organismos vivos.

A maioria das subunidades monoméricas com as quais todas as macromoléculas são constituídas exerce mais de uma função nas células vivas. Os nucleotídeos servem não apenas como subunidades para os ácidos nucléicos, mas também como moléculas transportadoras de energia. Os aminoácidos são subunidades das moléculas protéicas e também precursores de neurotransmissores, pigmentos e muitos outros tipos de biomoléculas.

Destas considerações podemos destacar alguns dos princípios da lógica molecular da vida:

- Todos os organismos vivos constroem moléculas a partir dos mesmos tipos de subunidades monoméricas.
- A estrutura de uma macromolécula determina sua função biológica específica.
- Cada gênero e espécie são definidos por seu conjunto distinto de macromoléculas.

[1] Os termos usados para indicar o tamanho de uma molécula são freqüentemente confundidos. Nós usamos peso molecular ou M_r, massa molecular relativa, uma razão adimensional da massa de uma molécula para um doze avos ($^1/_{12}$) da massa do ^{12}C. O tamanho de uma molécula pode também ser corretamente dado em termos de massa molecular (m), que tem unidades de dáltons (Da) ou unidades de massa atômica (uma). Uma molécula nunca deve ser descrita como tendo um peso molecular ou M_r (uma propriedade adimensional) expresso em dáltons ou unidades de massa atômica.



O número de seqüências diferentes possíveis para um segmento de 8 subunidades =

Palavras inglesas	Ácido desoxirribonucléico (DNA)	Proteínas
26^8 ou $2{,}1 \times 10^{11}$	4^8 ou 65.536	20^8 ou $2{,}56 \times 10^{10}$

Figura 1-3 – As subunidades monoméricas em seqüências lineares podem expressar mensagens infinitamente complexas. O número de diferentes seqüências possíveis (S) depende do número de diferentes tipos de subunidades (N) e do comprimento da seqüência linear (L): $S = N^L$. Para polímeros do tamanho de proteínas ($L \approx 400$), S é 20^{400} — um número astronômico.

A Produção de Energia e seu Consumo no Metabolismo

A energia é um tema central em bioquímica: as células e os organismos dependem de um suprimento constante de energia para poderem se opor à tendência, inexorável da natureza, de queda para níveis menores de estado energético. O armazenamento e a expressão da informação consomem energia; sem essa energia as estruturas ricas em informação tornar-se-iam inexoravelmente desordenadas e sem significado. As reações de síntese que ocorrem no interior das células, como os processos de síntese em uma fábrica, requerem o fornecimento de energia. A energia é consumida no movimento de uma bactéria ou em uma corrida olímpica, no acender das luzes de um vaga-lume ou na descarga de um peixe-elétrico. As células desenvolveram, durante a evolução, mecanismos altamente eficientes para capturar a energia do Sol, ou extraí-la de alimentos oxidáveis, e transferi-la para os processos que dela necessitam.

Os organismos nunca estão em equilíbrio com seu ambiente

No curso da evolução biológica, um dos primeiros desenvolvimentos deve ter sido o aparecimento de uma membrana lipídica que envolveu as moléculas hidrossolúveis da célula primitiva, separando-as do meio ambiente e permitindo que elas se acumulassem em concentrações relativamente altas. As moléculas e os íons contidos no interior dos organismos vivos diferem em tipo e em concentração das existentes no meio ambiente. Por exemplo, as células de um peixe de água-doce contêm certos íons inorgânicos em concentrações muito diferentes das da água em que vivem (Fig. 1-4). Proteínas, ácidos nucléicos, açúcares e lipídios estão presentes no peixe, mas essencialmente ausentes no meio ambiente, o qual, por sua vez, contém átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio em moléculas mais simples como o dióxido de carbono e a água. Quando o peixe morre, as substâncias que o compõem entram, finalmente, em equilíbrio com aquelas do meio ambiente.

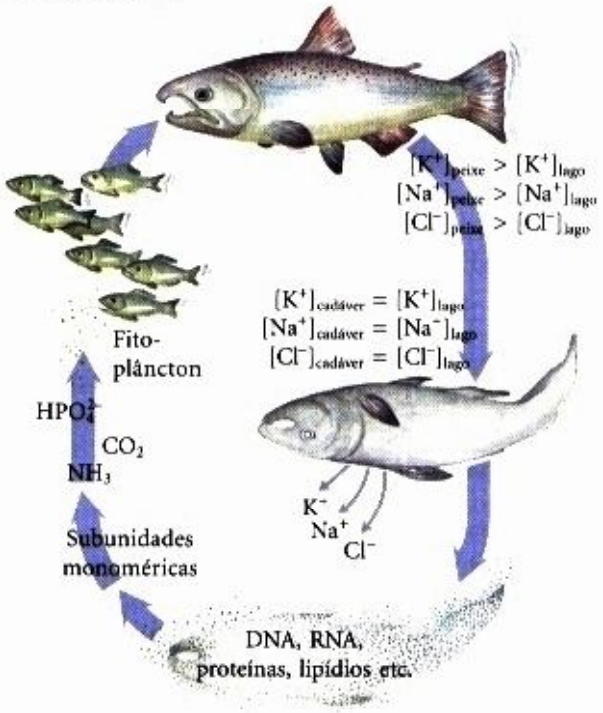


Figura 1-4 – Os organismos vivos não estão em equilíbrio com o meio ambiente. A morte e a decomposição restabelecem o equilíbrio. Durante o crescimento, a energia dos alimentos é empregada na construção de moléculas complexas e na concentração de íons existentes no ambiente. Quando o organismo morre, este perde a capacidade de obter energia a partir dos alimentos. Sem energia, o cadáver não pode manter gradientes de concentração e os íons passam para o ambiente. Inexoravelmente, os componentes macromoleculares decompõem-se em substâncias mais simples. Estes últimos servem como recursos nutricionais para o fitoplâncton, o qual, por sua vez, será ingerido por organismos maiores. Por convenção, os parênteses lineares [ ], ou colchetes, representam, no caso presente, concentração de espécies iônicas.

A composição molecular reflete um estado estacionário dinâmico

Embora a composição química de um organismo possa ser quase constante ao longo do tempo, a população de moléculas no interior de uma célula ou organismo está longe de ser estática. As moléculas são sintetizadas e depois desmontadas por reações químicas contínuas, envolvendo um fluxo constante de massa e energia através do sistema. As moléculas de hemoglobina que, neste momento, estão carregando oxigênio de seus pulmões para o seu cérebro foram sintetizadas durante o mês passado; dentro de um mês, elas serão degradadas e substituídas por novas moléculas. A glicose que você ingeriu em sua última refeição está agora circulando em sua corrente sangüínea; antes do dia terminar, essas moléculas de glicose terão sido convertidas em alguma outra substância, como dióxido de carbono ou gordura, e substituídas por um suprimento novo de moléculas de glicose. A quantidade de hemoglobina e glicose no sangue permanece quase constante porque a velocidade de síntese ou a ingestão de cada uma delas equilibra-se com a velocidade de quebra, consumo ou conversão em algum outro produto (Fig. 1-5). A constância da concentração não é, entretanto, reflexo da inércia química desses compostos, mas o resultado de um **estado estacionário dinâmico**.

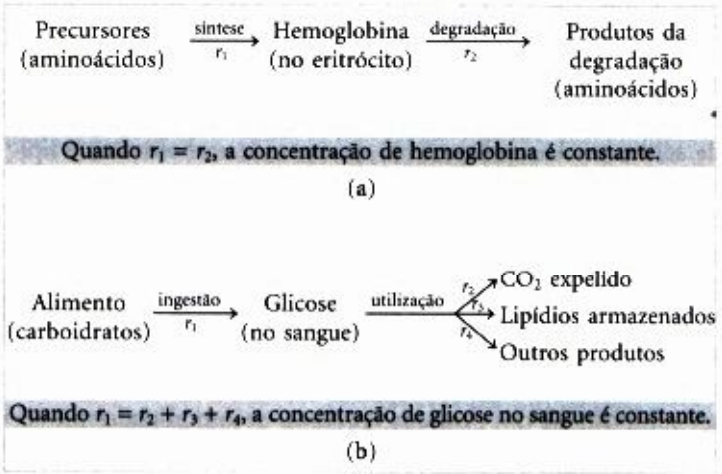


Figura 1-5 – Estado estacionário dinâmico. Um estado estacionário dinâmico acontece quando a velocidade de aparecimento de um componente celular é contrabalançada exatamente pela velocidade de seu desaparecimento. Neste esquema, r_1, r_2 etc. representam a velocidade dos vários processos. Em (**a**), uma proteína (hemoglobina) é sintetizada e, depois, degradada. Em (**b**), a glicose derivada dos alimentos (ou de carboidratos armazenados) entra na corrente sangüínea a partir de alguns tecidos (intestinos, fígado) e então abandona o sangue para ser consumida pelos processos metabólicos de outros tecidos (coração, cérebro, músculo esquelético). As concentrações do equilíbrio estacionário dinâmico da hemoglobina e da glicose são mantidas por mecanismos complexos que regulam as velocidades relativas dos processos mostrados nesta figura.

Os organismos transformam energia e matéria do meio ambiente

As células vivas e os organismos precisam realizar trabalho para permanecerem vivos e para se reproduzirem. A síntese contínua de componentes celulares requer trabalho químico; o acúmulo e a retenção de sais e de vários compostos orgânicos contra um gradiente de concentração envolvem um trabalho osmótico; a contração de um músculo ou o movimento do flagelo de uma bactéria representa trabalho mecânico. A bioquímica examina esses processos pelos quais a energia é extraída, canalizada e consumida; assim é essencial entender os princípios fundamentais da **bioenergética** — transformações ou trocas de energia das quais todos os organismos vivos dependem.

Para reações que ocorrem em solução, podemos definir um **sistema** como todos os reagentes e produtos, o solvente e a atmosfera próxima, ou seja, tudo o que está dentro de uma região definida do espaço. Juntos, o sistema e seus arredores, constituem o **universo**. Se o sistema não troca matéria nem energia com seus arredores, ele é dito ser **fechado**. Se o sistema troca energia mas não troca matéria com seu meio, ele é dito sistema **isolado**; se troca ambas, energia e matéria, com o meio, ele é um sistema **aberto**.

Um organismo vivo é um sistema aberto, ele troca matéria e energia com seu meio. Organismos vivos usam duas estratégias para captar enêrgia do seu meio: (1) eles obtêm combustíveis químicos da vizinhança e extraem a energia oxidando-os; ou (2) eles absorvem energia da luz solar.

- Organismos vivos criam e mantêm suas estruturas complexas e ordenadas usando energia extraída de combustíveis ou da luz solar.

A primeira lei da termodinâmica foi desenvolvida a partir de conhecimentos físicos e químicos, mas é totalmente válida para os sistemas biológicos; ela descreve o princípio da conservação de energia:

- Em qualquer mudança física ou química, a quantidade de energia total do universo permanece constante, embora a forma de energia possa mudar.

As células são transdutores consumados de energia, capazes de interconverter energia química, eletromagnética, mecânica e osmótica com grande eficiência (Fig. 1-6). Os transdutores biológicos de energia diferem da maioria das máquinas comuns que dependem de diferenças de pressão e temperatura. Uma máquina a vapor, por exemplo, converte a energia química do combustível em calor aumentando a temperatura de uma porção de água até seu ponto de ebulição para produzir vapor d'água em alta pressão, o qual aciona um mecanismo qualquer. O motor de combustão interna, da mesma forma, depende de mudanças na temperatura e na pressão. Em contraste, todas as partes de um organismo vivo precisam operar à mesma temperatura e pressão, e o fluxo de calor não é uma fonte utilizável de energia.

- As células vivas são motores químicos que funcionam à temperatura constante.

O fluxo de elétrons fornece energia para os organismos

Praticamente todos os seres vivos obtêm energia, direta ou indiretamente, da energia radiante da luz solar, a qual se origina de reações de fusão termonuclear que formam o elemento hélio e que ocorrem no interior do Sol (Fig. 1-7). As células fotossintéticas absorvem a energia radiante do Sol e a utilizam para retirar elétrons da molécula de água e adicioná-los à molécula de dióxido de carbono, formando produtos ricos em energia como o amido e a sacarose. Quando promovem essas reações, a maioria dos organismos fotossintéticos libera oxigênio molecular na atmosfera (Fig. 1-8). Em última análise, os organismos que não execu-

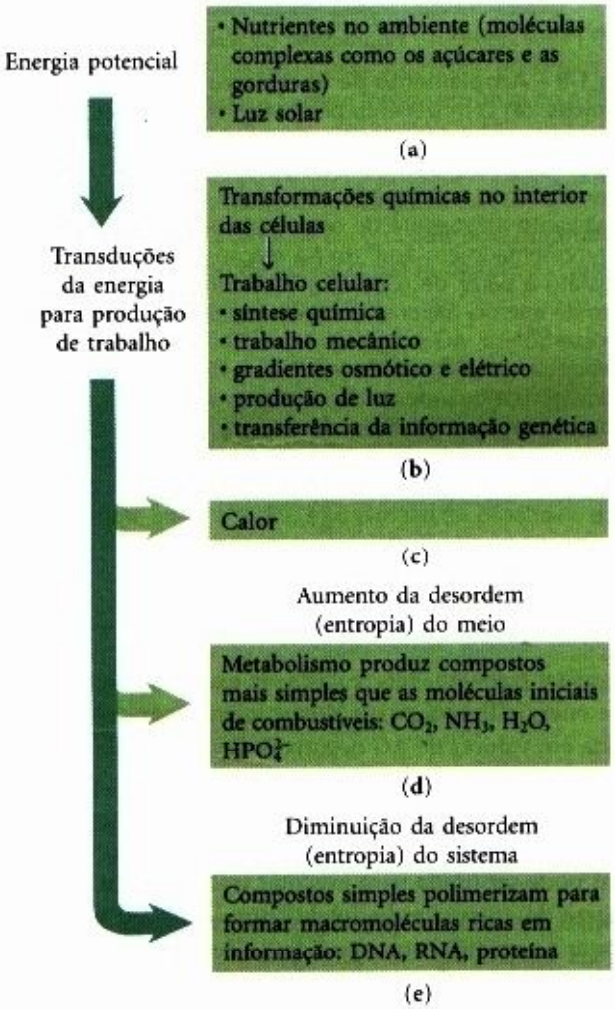


Figura 1-6 – Durante as transduções metabólicas, a entropia aumenta à medida que diminui a energia potencial das moléculas nutrientes complexas. Os organismos vivos (**a**) extraem energia do seu meio ambiente, (**b**) convertem parte dela em formas de energia úteis para a produção de trabalho e (**c**) fazem retornar parte da energia para o meio ambiente na forma de calor, (**d**) liberam moléculas de produtos finais, os quais são menos organizados do que o alimento inicial, aumentando assim a entropia do universo. Um efeito dessas transformações é (**e**) aumento na ordem por meio da formação de macromoléculas complexas (diminuição da desordem do sistema). No Capítulo 14, retomaremos para o tratamento quantitativo de entropia.

Figura 1-7 – A luz solar é a fonte última de toda a energia biológica. As reações termonucleares no interior do Sol produzem energia que é transmitida para a Terra na forma de luz e convertida em energia química pelas plantas e certos microrganismos, por meio dos processos fotossintéticos.

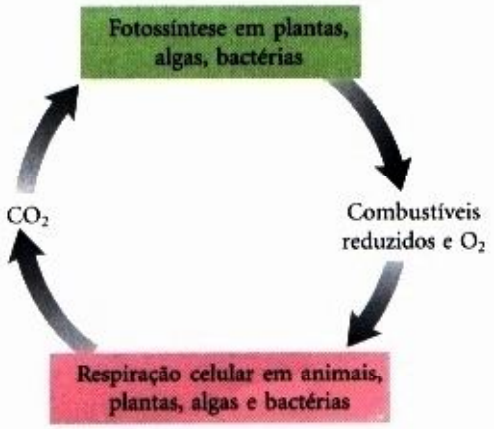


Figura 1-8 – Organismos fotossintéticos (plantas, algumas algas e algumas bactérias) são os provedores finais de combustíveis — compostos ricos em energia e reduzidos — na biosfera. A energia da luz solar dirige a síntese de combustíveis, como sacarose e amido, com O_2 como um subproduto. Esses combustíveis ou os próprios organismos fotossintéticos são então uma fonte de alimento para animais, os quais oxidam a sacarose e o amido (usando O_2 e produzindo CO_2) para suprir energia. Esse processo de oxidação de combustível — respiração celular — é a fonte de energia para o metabolismo em ambos os organismos fotossintéticos e não-fotossintéticos.

tam a fotossíntese obtêm energia para as suas necessidades pela oxidação dos produtos ricos em energia elaborados pela fotossíntese, passando elétrons para o oxigênio atmosférico e sintetizando água, dióxido de carbono e outros produtos finais, os quais são reciclados no meio ambiente. Virtualmente todos os transdutores de energia nas células podem ser relacionados ao fluxo de elétrons de uma molécula para outra na oxidação de combustíveis ou na captura de energia luminosa durante a fotossíntese. Esse fluxo de elétrons é "morro-abaixo", quer dizer, de um potencial eletroquímico maior para outro menor; como tal, ele é formalmente análogo ao fluxo de elétrons em um circuito elétrico acionado por uma bateria. Todas essas reações que envolvem fluxos de elétrons são **reações de oxirredução**. Assim, emergem outros princípios característicos do estado vivo da matéria:

- As necessidades energéticas de, virtualmente, todos os organismos são providas, direta ou indiretamente, da energia solar.
- O fluxo de elétrons nas reações de oxirredução é a base da transdução e da conservação da energia nas células vivas.
- Todos os organismos vivos são interdependentes, trocando entre si energia e matéria por meio do meio ambiente.

Acoplamento de energia liga as reações químicas em biologia

O tema central em bioenergética é o modo pelo qual a energia do metabolismo de combustíveis ou da captura de luz é acoplada a reações que requerem energia. Considere o exemplo mecânico simples de acoplamento de energia mostrado na Figura 1-9a. Um objeto no alto de um plano inclinado tem uma certa quantidade de energia potencial devido à sua altura. Esse objeto tende a deslizar para baixo espontaneamente, perdendo a sua energia potencial de posição na medida em que se aproxima do solo. Quando um instrumento apropriado, constituído de correias e polias, é ligado ao objeto, o movimento espontâneo para baixo pode realizar uma certa quantidade de trabalho, quantidade esta nunca maior que a variação da energia potencial de posição. A quantidade de energia realmente disponível para realização de trabalho, chamada de **energia livre**, G, será sempre um pouco menor que a variação total em energia, porque uma parte dela é dissipada como calor de fricção. Quanto maior a elevação do objeto em relação à sua posição final, maior será a variação da energia quando ele desliza para baixo, e maior a quantidade de trabalho que pode ser realizado.

Reações químicas podem ser acopladas assim que uma reação liberadora de energia promove uma reação que requer energia. Reações químicas em sistemas fechados ocorrem espontaneamente até que o **equilíbrio** seja alcançado. Quando um sistema está em equilíbrio, a velocidade de formação do produto é exatamente igual à velocidade na qual o produto é convertido para reagente. Portanto, não existe nenhuma variação líquida nas concentrações de reagentes e produtos, e um "estado estacionário" é alcançado. A variação de energia, que ocorre enquanto o sistema se move de seu estado inicial para o equilíbrio, a pressão e a temperatura constantes, é dada pela **variação de energia livre, ΔG**. A grandeza de ΔG depende da reação química particular e de quanto o sistema inicialmente está longe do equilíbrio. Cada composto envolvido em uma reação química contém uma certa quantidade de energia potencial relacionada com o tipo e o número de suas ligações. Nas reações que ocorrem espontaneamente, os produtos têm menos energia livre que os reagentes, assim a reação libera energia livre, que está disponível

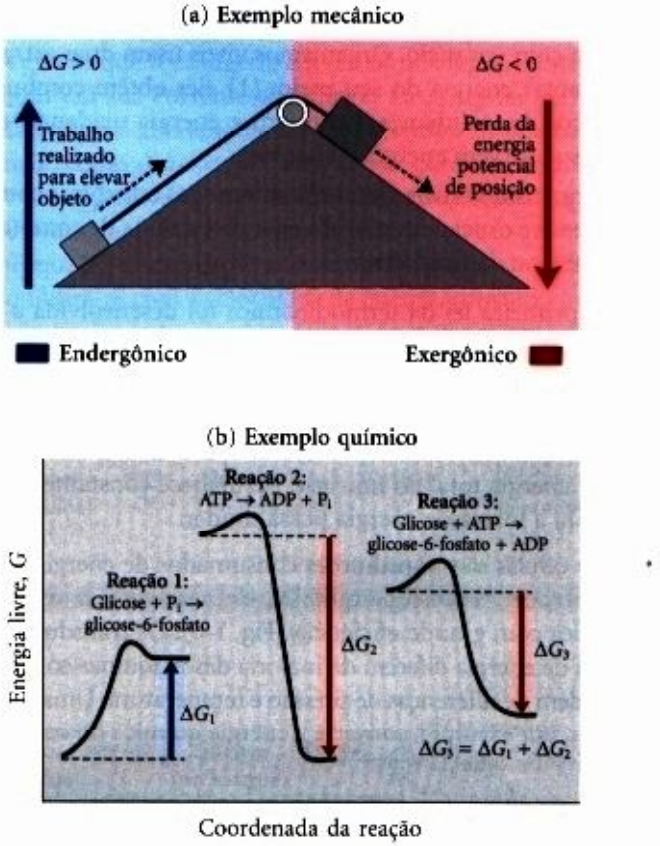


Figura 1-9 – Acoplamento de energia em processos mecânicos e químicos. (**a**) O movimento para baixo de um objeto libera energia potencial que pode realizar trabalho. A energia potencial tornada disponível pelo movimento descendente espontâneo (um processo exergônico), representado em cor-de-rosa, pode ser acoplada ao movimento ascendente de outro objeto (um processo endergônico), representado em azul. (**b**) Na reação 1, a formação de glicose-6-fosfato a partir de glicose e fosfato inorgânico, P_i, forma um produto de energia maior que aquela dos dois reagentes. Para essa reação exergônica, ΔG é positivo. Na reação 2, a quebra exergônica de adenosina trifosfato (ATP; veja Fig. 1-10) pode dirigir uma reação endergônica quando as duas reações são acopladas. A reação exergônica tem uma variação de energia livre grande e negativa (ΔG_2), e a reação endergônica tem uma variação de energia livre positiva e menor (ΔG_1). A terceira reação efetua a soma das reações 1 e 2, e a variação de energia livre ΔG_3 é a soma aritmética de ΔG_1 e ΔG_2. Por ser o valor de ΔG_3 negativo, a reação total é exergônica e ocorre espontaneamente.

para realizar trabalho. Tais reações são **exergônicas**, e a diminuição da energia livre a partir dos reagentes para os produtos é expressa em valores de ΔG negativos. Reações **endergônicas** requerem uma quantidade de energia, e seus valores de ΔG são, portanto, positivos. Assim como nos processos mecânicos, somente parte da energia liberada nas reações bioquímicas exergônicas pode ser usada para executar trabalho. Nos sistemas vivos, parte da energia é dissipada como calor ou perdida para aumentar a entropia, uma medida da desorganização, que será definida com mais rigor no Capítulo 14.

Nos organismos vivos, como no exemplo mecânico na Figura 1-9a, uma reação exergônica pode ser acoplada a uma reação endergônica ou a um processo para conduzir reações diferentes desfavoráveis. A Figura 1-9b ilustra esse princípio para o caso da síntese de glicose-6-fosfato, uma reação que ocorre em células do músculo. A maneira mais simples de produzir glicose-6-fosfato seria pela reação 1, que é endergônica (P_i é uma abreviação para fosfato inorgânico, HPO_4^{2-}. Não se preocupem com as estruturas desses compostos agora; elas serão descritas em detalhes mais adiante).

Reação 1: Glicose + P_i ⟶ glicose-6-fosfato (endergônica, ΔG é positivo)

Nesta reação, o produto contém mais energia que os reagentes. Uma segunda reação, muito exergônica, pode ocorrer nas células vivas.

Reação 2: ATP ⟶ ADP + P_i (exergônica, ΔG é negativo)

Nesta reação, os produtos contêm *menos* energia que os reagentes — a reação libera energia. As duas reações químicas compartilham um intermediário comum, P_i, o qual é consumido na reação 1 e produzido na reação 2. As duas reações podem ser acopladas na forma de uma reação 3, que é escrita como a soma das reações 1 e 2, com o intermediário comum P_i omitido dos dois lados da equação:

Reação 3: Glicose + ATP ⟶ glicose-6-fosfato + ADP

Por ser a energia liberada na reação 2 maior do que aquela consumida na reação 1, a reação 3 é exergônica: alguma energia é liberada (ΔG_3 na Fig. 1-9b). Células vivas então sintetizam glicose-6-fosfato, catalisando uma reação direta entre glicose e ATP, de fato acoplando a reação 1 à reação 2.

O acoplamento de reações endergônicas com aquelas exergônicas é absolutamente central para trocas de energia nos sistemas vivos. O mecanismo pelo qual o acoplamento de energia ocorre nas reações biológicas é via um intermediário compartilhado. Veremos que na reação 2, na Figura 1-9b, a quebra de **adenosina trifosfato (ATP)** é a reação exergônica, que dirige muitos processos endergônicos, nas células. De fato ATP (Fig. 1-10) é o maior transportador de energia química em todas as células, acoplando processos endergônicos àqueles exergônicos. O grupo fosfato terminal do ATP, sombreado em rosa-escuro na Figura 1-10, é transferido para uma variedade de moléculas receptoras, que são ativadas para favorecer transformações químicas. Adenosina difosfato (ADP) é reciclado (fosforilado) para ATP, à custa de energia química (durante oxidação dos combustíveis) ou da luz solar (na fotossíntese celular).

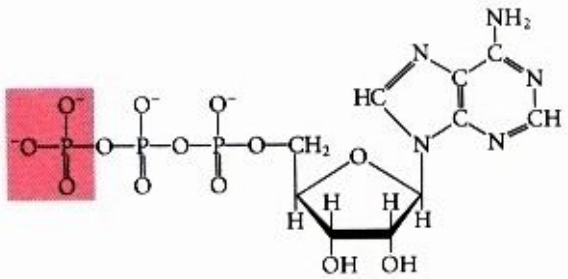


Figura 1-10 – Adenosina trifosfato (ATP). A remoção do grupo fosfato terminal do ATP (sombreado em rosa-escuro) é altamente exergônica e esta reação é acoplada a muitas reações endergônicas na célula, como no exemplo descrito na Figura 1-9b.

- Reações celulares endergônicas são dirigidas pelo seu acoplamento a processos químicos ou fotoquímicos exergônicos por meio de intermediários químicos compartilhados.

As enzimas promovem reações químicas em cadeia

O fato de uma reação ser exergônica não significa que ela necessariamente se processará de forma rápida. O caminho que vai do reagente ao produto quase invariavelmente envolve uma barreira energética, chamada barreira da ativação (Fig. 1-11), a qual precisa ser superada para que qualquer reação ocorra. A quebra e a síntese de ligações geralmente requerem o tensionamento e a torção das ligações existentes, criando um estado de transição de alto nível de energia livre, tanto em relação ao reagente quanto ao produto. O ponto mais alto da coordenada da reação, no diagrama, representa o estado de transição.

As barreiras de ativação são crucialmente importantes para a estabilidade das biomoléculas existentes nos sistemas vivos. Quando isoladas dos demais componentes celulares, a maioria das biomoléculas é estável por dias, ou mesmo anos, no interior das células; entretanto, elas sofrem transformações químicas em milissegundos. Sem a barreira de ativação, as biomoléculas no interior das células seriam rapidamente quebradas em forma simples e de pequeno conteúdo energético. O tempo de existência das moléculas complexas seria muito curto, e a extraordinária continuidade e organização da vida seriam impossíveis.

No interior das células, todas as reações químicas ocorrem devido à presença de **enzimas** — catalisadores que são capazes de aumentar enormemente a velocidade de reações químicas específicas sem serem consumidos no processo. As enzimas como catalisadores agem diminuindo a barreira de ativação entre o reagente e o produto. A **energia de ativação** ($\Delta G^{\ddagger}$; Fig. 1-11) requerida para superar essa barreira energética pode, em princípio, ser suprida pelo aquecimento da mistura de reação, mas essa opção não é possível nas células vivas. Assim, durante a reação, as enzimas ligam-se às moléculas dos reagentes no estado de transição, diminuindo, dessa maneira, a energia de ativação e acelerando enormemente a velocidade da reação (Fig. 1-12).

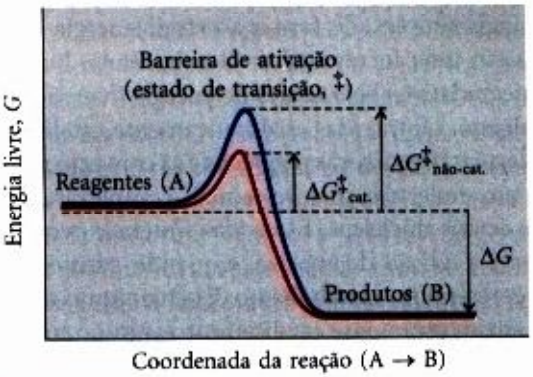


Figura 1-11 – Curso de uma reação química do ponto de vista energético. Uma barreira de ativação alta, representando o estado de transição, precisa ser vencida no processo de conversão dos reagentes (A) em produtos (B), ainda que os produtos sejam mais estáveis que os reagentes — como indicado por uma variação de energia livre grande (ΔG). A energia necessária para vencer a barreira de ativação é a energia de ativação ($\Delta G^{\ddagger}$). As enzimas catalisam as reações diminuindo a barreira de ativação. Ligam-se aos intermediários no estado de transição de forma muito firme, e a energia de ligação dessa interação reduz efetivamente a energia de ativação de $\Delta G^{\ddagger}_{não\text{-}catalisado}$ para $\Delta G^{\ddagger}_{catalisado}$. (Note que a energia de ativação não é relacionada com a variação da energia livre da reação ΔG.)

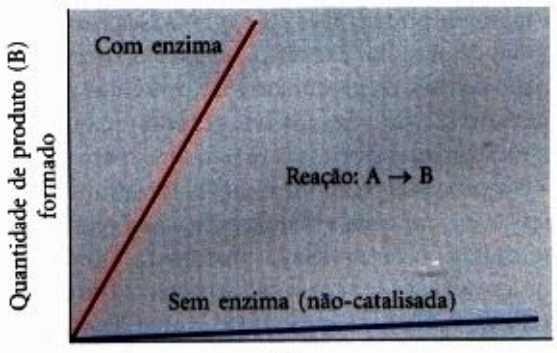


Figura 1-12 – Uma enzima aumenta a velocidade de uma reação química específica. Na presença de uma enzima específica para a conversão de um reagente A em um produto B, a velocidade da reação pode aumentar um milhão de vezes, ou mais, em relação à velocidade da reação não-catalisada. A enzima não é consumida no processo; uma molécula de enzima pode agir repetidamente na conversão de muitas moléculas de A para B.

A relação entre a energia de ativação e a velocidade da reação é exponencial; uma pequena diminuição no $\Delta G^{\ddagger}$ resulta em um grande aumento na velocidade da reação. As reações catalisadas por enzimas normalmente se processam a velocidades ao redor de 10^{10} até 10^{14} vezes maior do que as reações não catalisadas.

As enzimas são proteínas, com um número muito pequeno de exceções, como moléculas de RNA, que serão consideradas no Capítulo 26. Cada proteína enzimática é específica para a catálise de uma determinada reação, e cada reação no interior da célula é catalisada por uma enzima diferente. Cada célula requer, portanto, milhares de tipos diferentes de enzimas. A multiplicidade de enzimas, a sua alta especificidade para os reagentes e a sua suscetibilidade à regulação dão às células a capacidade de diminuir as barreiras de ativação seletivamente. Essa seletividade é crucial na eficaz regulação dos processos celulares.

Os milhares de reações químicas enzimaticamente catalisadas nas células são funcionalmente organizadas em muitas seqüências diferentes de reações consecutivas chamadas **vias**, nas quais o produto de uma reação se torna o reagente para a próxima reação (Fig. 1-13). Algumas dessas seqüências de reações enzimaticamente catalisadas degradam nutrientes orgânicos em produtos finais simples, de forma a extrair energia química e convertê-la em uma forma utilizável pela célula. Juntos, esses processos degradativos liberadores de energia livre são designados **catabolismo**. Outras vias enzimaticamente catalisadas partem de moléculas precursoras pequenas e as convertem, progressivamente, em moléculas maiores e mais complexas, incluindo proteínas e ácidos nucléicos. Essas vias sintéticas requerem invariavelmente a adição de energia, e quando consideradas em conjunto representam o **anabolismo**. Esse conjunto de vias imbricadas e enzimaticamente catalisadas constitui o que chamamos de **metabolismo**. O ATP é o mais importante elo de conexão (intermediário compartilhado) entre os componentes catabólicos e anabólicos dessas vias (Fig. 1-14). Essas redes de reações catalisadas por enzimas são virtualmente idênticas em todos os organismos vivos.

- O ATP é transportador universal de energia metabólica e une o catabolismo e o anabolismo.

O metabolismo é regulado para ser econômico e equilibrado

As células vivas não só podem sintetizar simultaneamente milhares de tipos diferentes de moléculas de carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucléicos e suas subunidades mais simples, mas também podem fazê-lo nas precisas proporções requeridas pelas células. Por exemplo, quando ocorre uma rápida multiplicação celular, os precursores de proteínas e ácidos nucléicos precisam ser sintetizados em grandes quantidades, enquanto as necessidades por esses precursores para células, que não estão em processo de multiplicação, são muito reduzidas. As enzimas-chave em cada via metabólica são reguladas de tal forma que cada tipo de molécula precursora é produzido em quantidade apropriada às necessidades correntes da célula. Considere a via mostrada na Figura 1-15, a qual leva à síntese da isoleucina (um dos aminoácidos, as subunidades monoméricas das proteínas). Se a célula começa a produzir mais isoleucina do que o necessário para a síntese protéica, a isoleucina não utilizada se acumula. Altas concentrações de isoleucina inibem a atividade catalítica da primeira enzima na via, diminuindo, imediatamente, a produção desse aminoácido. Essa **retroalimentação** ("feedback") **negativa** mantém em equilíbrio a produção e a utilização de cada intermediário metabólico.

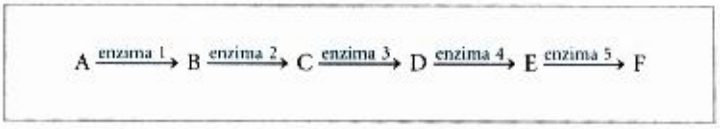


Figura 1-13 – Uma via metabólica linear. Nesta via, o reagente A é convertido no produto F após cinco etapas, sendo que cada etapa é catalisada por uma enzima específica para cada reação.

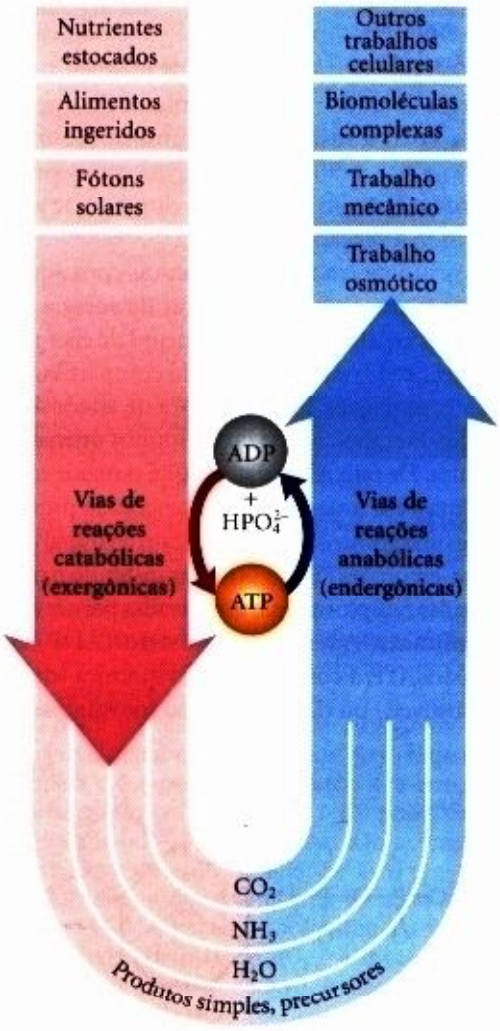


Figura 1-14 – O ATP é o intermediário químico que une os processos celulares liberadores de energia com aqueles que a consomem. Na célula, seu papel é análogo àquele do dinheiro na economia: ele é "produzido/ganho" nas reações exergônicas e "gasto/consumido" nas endergônicas.

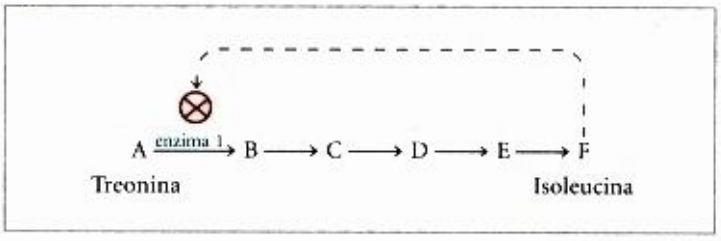


Figura 1-15 – Inibição retroativa. A regulação de uma via biossintética por inibição retroativa ("feedback"), uma via sintética típica (anabólica) na bactéria *E. coli*. Na via de biossíntese da isoleucina a partir da treonina, o acúmulo do produto, isoleucina (F), provoca a inibição da primeira reação da via; a isoleucina liga-se à enzima que catalisa esta reação, reduzindo sua atividade. (As letras de A a F representam os compostos ou intermediários desta via.)

As células vivas também regulam a síntese dos seus catalisadores, as enzimas. Assim, uma célula pode desativar a síntese de uma enzima necessária para a produção de um determinado produto, enquanto esse produto é obtido já pronto do meio ambiente. Essas propriedades de auto-ajustar-se e auto-regular-se permitem às células manterem-se em um estado de equilíbrio dinâmico, a despeito das flutuações do ambiente externo.

✦ As células vivas são máquinas químicas auto-reguladas e ajustadas para uma economia máxima.

Transferência da Informação Biológica

A existência permanente de espécies biológicas requer que sua informação genética seja mantida em uma forma estável e, ao mesmo tempo, expressa com um número muito pequeno de erros. O armazenamento efetivo e a expressão acurada da mensagem genética definem cada espécie individual, distinguem-nas umas das outras e asseguram a sua continuidade por gerações sucessivas.

Entre as descobertas mais produtivas da biologia do século XX estão a natureza química e a estrutura tridimensional do material genético, o DNA. A seqüência de desoxirribonucleotídeos no polímero linear codifica as instruções para a formação de todos os outros componentes celulares e proporciona um molde para a reprodução de moléculas idênticas de DNA a serem distribuídas para as células filhas, ou progênie, quando a célula se multiplica.

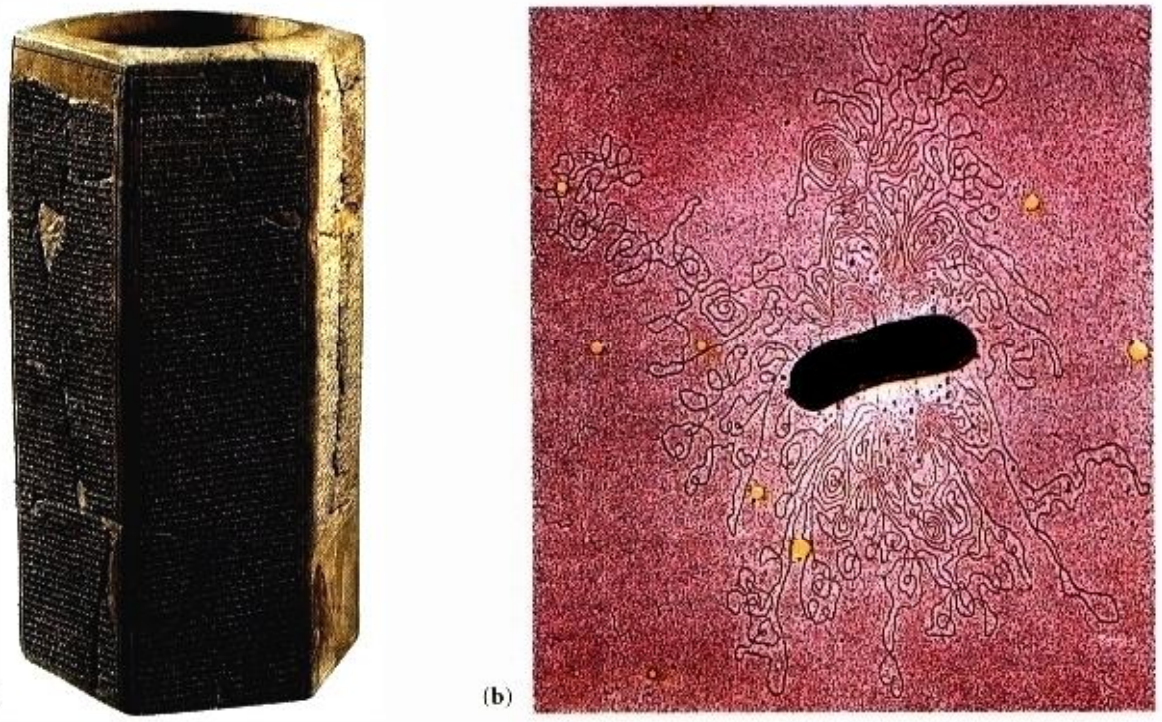
A continuidade genética é atribuição das moléculas de DNA

Talvez a mais notável de todas as propriedades das células e organismos vivos seja sua habilidade de reproduzir-se com fidelidade quase perfeita por incontáveis gerações. Essa continuidade de características transmitidas hereditariamente implica a constância, por milhares ou milhões de anos, da estrutura das moléculas que contêm a informação genética. Pouquíssimos registros históricos da civilização, mesmo aqueles gravados em cobre ou rocha, têm sobrevivido por mais de um milhão de anos. Mas existe uma boa evidência de que as instruções genéticas dos organismos vivos têm permanecido quase imutáveis por períodos muito mais longos; muitas bactérias têm aproximadamente os mesmos tamanhos, formas, estruturas internas, e contêm os mesmos tipos de precursores moleculares e enzimas, como aquelas que viveram bilhões de anos atrás (Fig. 1-16).

A informação hereditária é preservada no DNA, um polímero orgânico longo e fino tão frágil que sua molécula é fragmentada sob a ação das forças que aparecem em uma solução quando agitada ou pipetada. O espermatozóide ou o óvulo humano, carregando a informação hereditária acumulada por milhões de anos de evolução, transmite essas instruções na forma de moléculas de DNA, no qual a seqüência linear de nucleotídeos unidos covalentemente codifica a mensagem genética.

A estrutura do DNA permite seu reparo e sua replicação com fidelidade quase perfeita

A capacidade das células vivas de preservar o seu material genético para a geração seguinte resulta da complementaridade estrutural entre as duas metades da molécula do DNA (Fig. 1-17). A unidade básica do DNA é um polímero linear de quatro subunidades monoméricas diferentes, os **desoxirribonucleotídeos** (veja Fig. 1-3), arranjados em uma seqüência linear precisa. É essa seqüência linear que codifica a informação genética. Duas dessas fitas poliméricas são enroladas uma ao redor da outra para formar a dupla hélice do DNA, na qual cada subunidade monomérica em uma fita faz par com a subunidade complementar na fita oposta. Na replicação enzimática ou no reparo



(a) (b)

Figura 1-16 – Dois registros muito antigos. (**a**) O Prisma de Senaqueribe, inscrito cerca de 700 a.C., descreve em caracteres da linguagem assíria alguns eventos históricos do reinado de Senaqueribe. O Prisma contém perto de 20.000 caracteres, pesa cerca de 50kg e sobreviveu quase que intacto por 2.700 anos. (**b**) A única molécula de DNA da bactéria *E. coli*, a qual parece escoar de uma célula rompida, é centenas de vezes mais comprida do que a própria célula e contém, na forma codificada, toda a informação necessária para especificar as estruturas e funções celulares. O DNA bacteriano contém perto de 10 milhões de caracteres (nucleotídeos), pesa menos de 10^{-10}g e sofreu mudanças relativamente pequenas durante os últimos milhões de anos. Os pontos amarelos e as manchinhas escuras são artefatos da preparação, nesta micrografia eletrônica colorida.

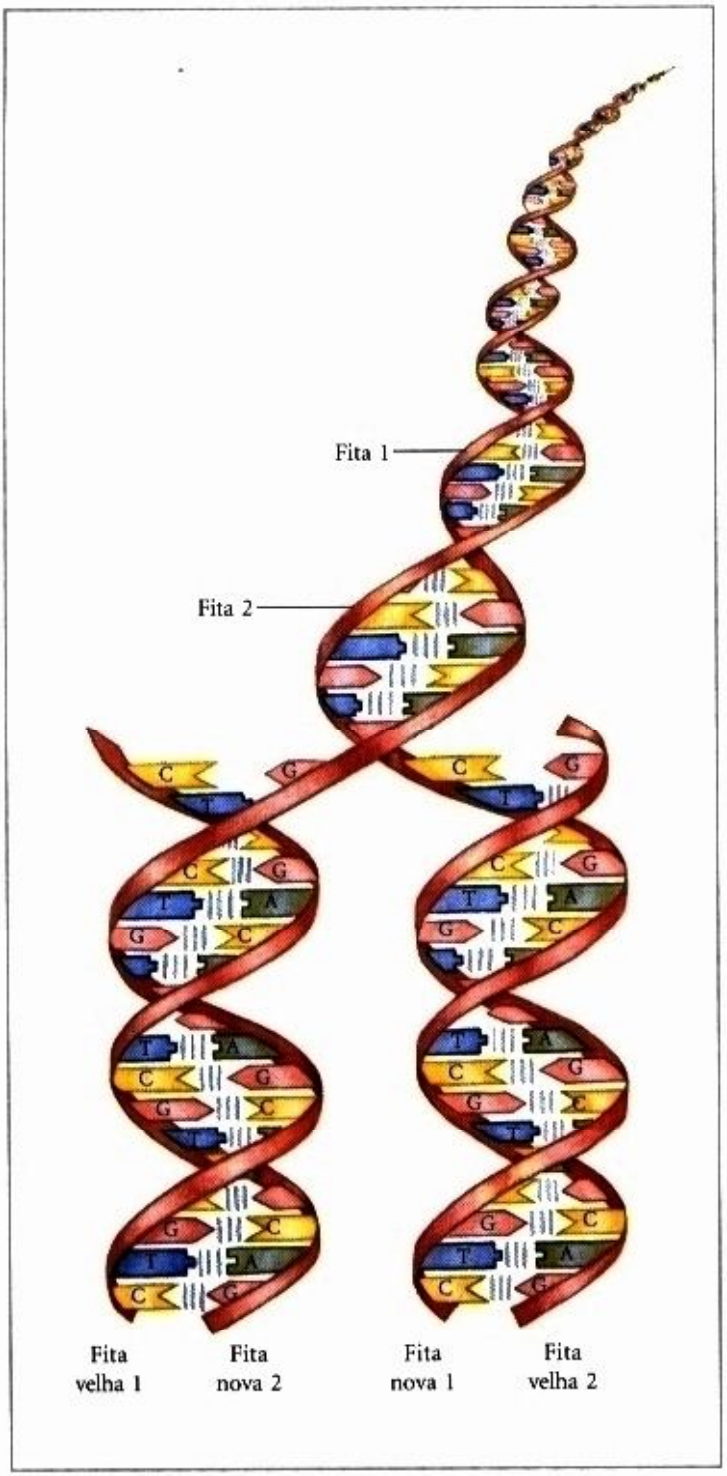


Figura 1-17 – Estrutura complementar do DNA. A estrutura complementar da fita dupla do DNA é responsável pela sua replicação acurada. O DNA é um polímero linear de quatro subunidades ligadas covalentemente, essas subunidades são os desoxirribonucleotídeos: desoxiadenilato (A), desoxiguanilato (G), desoxicitidilato (C) e desoxitimidilato (T). Devido à sua estrutura tridimensional, cada nucleotídeo tem a habilidade intrínseca de se associar, de forma altamente específica, a um outro nucleotídeo, porém de forma não-covalente: A sempre se associa ao seu nucleotídeo complementar T, e G ao seu complemento C. Na molécula em fita dupla do DNA, a seqüência de nucleotídeos em uma fita é **complementar** à seqüência na outra; em qualquer lugar que G ocorra na fita 1, C ocorrerá no ponto correspondente da fita 2. Onde quer que A ocorra na fita 1, T ocorrerá na fita 2. As duas fitas do DNA mantidas unidas por um grande número de pontes de hidrogênio (representadas aqui por linhas verticais azuis) entre os pares de nucleotídeos complementares enrolam-se umas nas outras para formar a dupla hélice do DNA. Na replicação do DNA, antes da divisão celular, as duas fitas do DNA original separam-se e são sintetizadas duas novas fitas, cada uma delas com uma seqüência de nucleotídeos complementar àquela da fita original. O resultado é duas moléculas de DNA em dupla hélice, cada uma delas idêntica ao DNA original.

do DNA, uma das duas fitas serve como molde para a montagem de outra fita de DNA, que é estruturalmente complementar. Antes que uma célula sofra divisão, as duas fitas de DNA separam-se e cada uma serve como molde para a síntese de uma fita complementar, gerando duas moléculas em dupla hélice idênticas, uma para cada célula filha. Se uma fita é danificada, a continuidade da informação é assegurada pela informação presente na outra fita.

- A informação genética está codificada na seqüência linear de quatro tipos de subunidades do DNA.
- A molécula em dupla hélice do DNA contém um molde interno para sua própria replicação e reparação.

Mudanças nas instruções hereditárias permitem a evolução

A despeito da fidelidade próxima da perfeição com que a replicação genética é feita, erros pouco freqüentes e irreparáveis, no processo de replicação, produzem mudanças na seqüência de nucleotídeos do DNA, representando uma **mutação** genética (Fig. 1-18). O mesmo efeito é obtido por reparação imperfeita dos danos causados a uma das fitas do DNA. As mutações podem alterar as instruções para a produção de componentes celulares. Muitas mutações são deletérias, ou até mesmo letais, para o organismo; podem, por exemplo, provocar a síntese de uma enzima defeituosa que não é capaz de catalisar uma reação metabólica essencial. Ocasionalmente, a mutação provoca uma melhor condição de um organismo ou célula para sobreviver no meio em que se encontra. A enzima mutante pode, por exemplo, ter adquirido especificidade ligeiramente diferente, de tal forma que ela é, agora, capaz de utilizar como reagente um certo composto, o qual a célula era previamente incapaz de metabolizar. Se uma população de células se encontra em um meio no qual o composto considerado era a única fonte de alimento disponível, a célula mutante terá uma vantagem sobre as demais que não sofreram a mutação (**tipo selvagem**). A célula mutante e sua progênie sobreviverão no novo ambiente, enquanto as células tipo selvagem ficarão desnutridas e serão eliminadas.

Variações genéticas ao acaso em indivíduos de uma população, combinadas com a seleção natural (sobrevivência dos indivíduos mais aptos em um meio desafiador ou que sofre mudanças), têm resultado na evolução de uma variedade enorme de organismos, cada um adaptado a viver em um determinado nicho ecológico.

A anatomia molecular revela relações evolucionárias

A bioquímica tem confirmado e estendido muito a teoria evolucionária. No século XVIII, o naturalista Carolus Linnaeus reconheceu as similitudes e as diferenças anatômicas entre os organismos vivos e forneceu uma base para estudar o relacionamento das espécies diferentes. Charles Darwin, no século XIX, deu-nos uma hipótese unificadora para explicar a filogenia dos organismos modernos — a origem de espécies diferentes a partir de um ancestral comum. A bioquímica, no século XX, começou a revelar a anatomia molecular das células de diferentes espécies — a seqüência de subunidades nos ácidos nucléicos e proteínas e as estruturas tridimensionais de moléculas individuais de ácidos nucléicos e proteínas.

Em nível molecular, a evolução é a emergência, no tempo, de diferentes seqüências de nucleotídeos no interior dos genes. Com novas seqüências genéticas sendo determinadas experimentalmente quase todos os dias, os bioquímicos têm um vasto e rico tesouro de evidências com o qual podem analisar as rela-

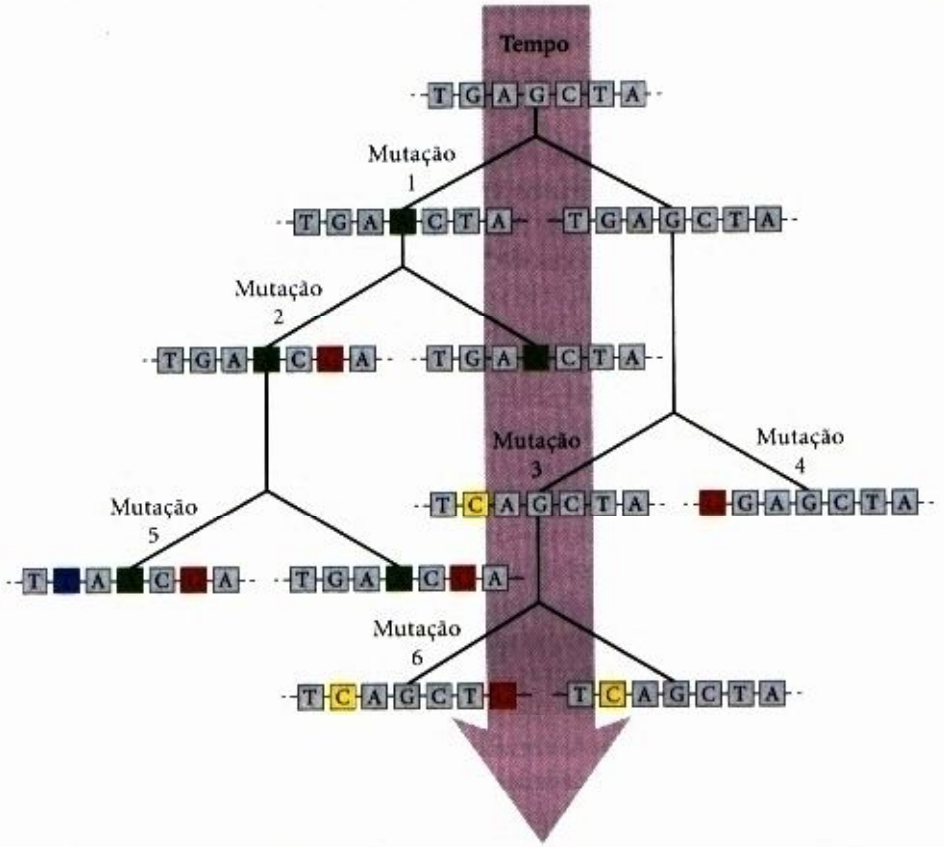


Figura 1-18 – Papel da mutação na evolução. Novas espécies biológicas, cada uma com uma seqüência de DNA única e original, resultam do acúmulo de mutações por um longo período de tempo. No alto está mostrado um pequeno segmento de um gene em um organismo progenitor hipotético. Com a passagem do tempo, mudanças na seqüência de nucleotídeos (mutações, indicadas aqui por quadros coloridos) ocorrem *uma de cada vez*, resultando em uma progênie com seqüências de DNA diferentes. Essa progênie mutante sofre, por sua vez, mutações ocasionais, produzindo sua própria progênie que difere por dois ou mais nucleotídeos da seqüência original. Quando duas linhagens se modificam muito por esse mecanismo, uma nova espécie foi criada.

ções evolucionárias e refinar a teoria da evolução. As seqüências de nucleotídeos de genomas inteiros (o genoma é o dote genético completo de um organismo) estão sendo determinadas (Tabela 1-1). As seqüências genômicas de um número de eubactérias e uma arquibactéria, um microrganismo eucariótico (*Saccharomyces cerevisiae*), e um animal multicelular (*Caenorhabditis elegans*) foram determinadas; seqüências de uma planta (*Arabidopsis thaliana*) e mesmo do *Homo sapiens* serão conhecidas logo. Com essas seqüências em mãos, comparações quantitativas, altamente detalhadas, entre as espécies proporcionarão esclarecimentos sobre o processo evolucionário. A filogenia molecular derivada das seqüências de genes é consistente com a filogenia clássica baseada em estruturas macroscópicas, mas em muitos casos mais precisa do que ela. Os mecanismos e as estruturas moleculares têm sido conservados durante o processo evolucionário, embora os organismos tenham divergido continuamente em nível anatômico macroscópico. Porém, em nível molecular, a unidade básica da vida é facilmente visível; mecanismos e estruturas moleculares cruciais são notavelmente similares desde o organismo mais simples até o mais complexo. A bioquímica tornou possível descobrir as características unificadoras comuns a todas as formas de vida.

A seqüência linear do DNA codifica proteínas com estruturas tridimensionais

A informação no DNA está codificada em uma seqüência linear (unidimensional) de unidades de nucleotídeos, mas a expressão dessa informação resulta em uma célula tridimensional. Essa mudança de uma para três dimensões ocorre em duas fases. Uma seqüência linear de desoxirribonucleotídeos no DNA codifica (por meio do RNA intermediário) a produção de uma proteína com uma seqüência linear correspondente de aminoácidos (Fig. 1-19). A proteína dobra-se sobre si mesma, numa forma tridimensional particular, ditada por sua seqüência de aminoácidos e estabilizada por interações não-covalentes. Embora a forma

Carolus Linnaeus
(1707-1778)

Charles Darwin
(1809-1882)

Tabela 1-1 – Alguns organismos cujos genomas foram completamente seqüenciados

Organismos	Tamanho do genoma (milhões de bases)	Interesse biológico
Mycoplasma pneumoniae	0,8	Causa pneumonia
Treponema pallidum	1,1	Causa sífilis
Borrelia burgdorferi	1,3	Causa doença de Lyme
Helicobacter pylori	1,7	Causa úlcera gástrica
Methanococcus jannaschii	1,7	Cresce a 85°C!
Haemophilus influenzae	1,8	Causa influenza bacteriana
Methanobacterium thermoautotrophicum	1,8	Membro da Arquea
Archaeoglobus fulgidus	2,2	Metanogênio de alta temperatura
Synechocystis sp.	3,6	Cianobactéria
Bacillus subtilis	4,2	Bactéria comum do solo
Escherichia coli	4,6	Algumas linhagens causam síndrome do choque tóxico
Saccharomyces cerevisiae	12,1	Eucarioto unicelular
Caenorhabditis elegans	'97	Verme multicelular

Figura 1-19 – As seqüências lineares de desoxirribonucleotídeos no DNA, arranjadas em unidades conhecidas por genes, são transcritas em moléculas de ácido ribonucléico (RNA) com seqüências de ribonucleotídeos complementares. As seqüências de RNA são então traduzidas em cadeias protéicas lineares, as quais se dobram espontaneamente assumindo suas formas tridimensionais nativas. As proteínas individuais, às vezes, associam-se com outras proteínas para formar complexos supramoleculares estabilizados por numerosas ligações fracas.

final da proteína dobrada seja ditada por uma seqüência de aminoácidos, o processo de enovelamento é auxiliado pelas proteínas que atuam como proteínas-guia moleculares ("chaperones moleculares") que evitam o enovelamento incorreto. A estrutura tridimensional precisa (**conformação nativa**) é crucial para a função da proteína, quer como catalisadora quer como elemento estrutural.

- A seqüência linear de aminoácidos em uma proteína leva à aquisição de uma estrutura tridimensional única e exclusiva por meio de um processo de automontagem.

Uma vez que uma proteína tenha se enrolado em sua conformação nativa, ela pode associar-se de forma não-covalente com outras proteínas ou com ácidos nucléicos ou com lipídios, para formar complexos supramoleculares como os cromossomos, os ribossomos e as membranas. Esses complexos são em muitos casos automontados. As moléculas individuais desses complexos têm sítios de ligação mútuos, específicos e de alta afinidade, e, dentro da célula, formam-se espontaneamente complexos funcionais.

- As macromoléculas individuais com afinidade específica por outras macromoléculas automontam-se em complexos supramoleculares.

Interações não-covalentes estabilizam as estruturas tridimensionais

As forças que dão estabilidade e especificidade às estruturas tridimensionais das macromoléculas e aos complexos supramoleculares são, em sua maior parte, interações não-covalentes. Essas interações, individualmente fracas, mas coletivamente fortes, incluem pontes de hidrogênio, interações iônicas entre grupos eletricamente carregados, interações de van der Waals e interações hidrofóbicas entre grupos não-polares. As interações fracas são transientes; individualmente elas se formam e se rompem em pequenas frações de segundo. A natureza transiente das interações não-covalentes confere flexibilidade às macromoléculas, flexibilidade esta que é crítica para suas funções. Além disso, o grande número de interações não-covalentes em uma única macromolécula torna improvável que em dado instante todas as interações estejam rompidas; assim, as estruturas macromoleculares são estáveis ao longo do tempo.

- As estruturas biológicas tridimensionais combinam as propriedades de flexibilidade e de estabilidade.

A flexibilidade e a estabilidade da estrutura em dupla hélice da molécula do DNA são devidas à complementaridade das suas duas fitas e às numerosas interações fracas que existem entre elas. A flexibilidade dessas interações permite a separação das fitas durante a replicação do DNA (veja Fig. 1-17); a complementaridade da dupla hélice é essencial para a continuidade genética.

Interações não-covalentes são também centrais na especificidade e na eficiência catalítica das enzimas. As enzimas ligam os intermediários no estado de transição por meio de numerosas ligações fracas, as quais são, entretanto, precisamente orientadas. Como as interações fracas são flexíveis, o complexo sobrevive às distorções que ocorrem durante a transformação do reagente em produto.

A formação de interações não-covalentes fornece energia para a automontagem de macromoléculas pela estabilização das conformações nativas em detrimento das formas dobradas ao acaso. A conformação nativa de uma proteína é tal que as vantagens energéticas de formar interações fracas contrabalançam a tendência da cadeia protéica de assumir formas dobradas ao acaso. Dados uma seqüência linear específica de aminoácidos e um conjunto específico de condições (temperatura, condições iônicas, pH), uma proteína assumirá sua conformação nativa espontaneamente, sem a necessidade de um molde ou padrão para dirigir ou orientar o acoplamento.

As Raízes Físicas do Mundo Bioquímico

Podemos, agora, sumarizar os vários princípios da lógica molecular da vida:

- Uma célula viva é um sistema isotérmico de macromoléculas que se autocontém, automonta, auto-ajusta e autoperpetua, e que extrai energia livre do seu meio ambiente.
- A célula usa essa energia para manter-se em um estado estacionário dinâmico, distante do equilíbrio com o seu meio ambiente.
- As várias transformações químicas dentro das células são organizadas em uma rede de vias de reações, pro-

movidas a cada etapa por catalisadores específicos, chamados enzimas, os quais a própria célula produz. Uma grande economia das partes e dos processos é atingida pela regulação da atividade de enzimas-chave.

- A auto-replicação através de muitas gerações é conseguida pelo sistema linear de codificar a informação, que é auto-reparável. A informação genética, codificada como seqüências de subunidades de nucleotídeos no DNA e no RNA, especifica a seqüência de aminoácidos em cada proteína, o que, em última análise, determina a estrutura tridimensional e a função de cada proteína.
- Muitas interações fracas, não-covalentes, agindo cooperativamente, estabilizam as estruturas tridimensionais das biomoléculas e dos complexos supramoleculares, permitindo flexibilidade suficiente para ações biológicas.

As reações químicas e a regulação dos processos foram altamente refinadas durante a evolução. No entanto, não importa o quanto pareçam complexas, a maquinaria orgânica das células vivas funciona de acordo com um mesmo conjunto de leis que governa a operação das máquinas inanimadas.

Esse conjunto de princípios tem sido confirmado pelo estudo de organismos unicelulares, tais como a bactéria *E. coli*, os quais são excepcionalmente apropriados ao estudo bioquímico e genético. Embora os organismos multicelulares precisem resolver certos problemas não encontrados por organismos unicelulares, como a diferenciação do ovo fertilizado em tipos celulares especializados, ainda assim os mesmos princípios têm sido aplicados a eles. E aos seres humanos, com suas extraordinárias capacidades de pensamento, linguagem e criatividade, é possível que sejam aplicáveis essas afirmações simples e mecânicas? O recente passo do progresso bioquímico em direção ao entendimento de tais processos, como a regulação genética, a diferenciação celular, a comunicação entre as células e a função dos neurônios, tem sido extraordinariamente rápido e está em processo de aceleração. O sucesso dos métodos bioquímicos em resolver e redefinir esses problemas justifica a esperança de que as funções mais complexas dos organismos mais desenvolvidos serão, eventualmente, explicáveis em termos moleculares.

Os fatos relevantes da bioquímica são muitos; o estudante que aborda esse assunto pela primeira vez pode, ocasionalmente, senti-lo acima de suas forças. Talvez o mais encorajador no desenvolvimento da Biologia do século XX seja o conhecimento de que, apesar de toda a vasta diversidade do mundo biológico, há uma unidade e simplicidade básicas nos processos próprios da vida. Os princípios organizadores, a unidade bioquímica e a perspectiva evolucionária da diversidade, expostos no nível molecular, servirão como parâmetros de referência que auxiliarão o estudo da bioquímica.

Leitura Adicional

Asimov I. (1962) *Life and Energy: An Exploration of the Physical and Chemical Basis of Modern Biology.* Doubleday & Co., Inc., New York.

Uma descrição cativante do papel das transformações energéticas na biologia, escrita para o neófito inteligente.

Blum HF. (1968) *Time's Arrow and Evolution,* 3rd edn, Princeton University Press, Princeton, NJ.

Uma excelente discussão da maneira pela qual a segunda lei da termodinâmica tem influenciado a evolução biológica.

Darwin C. (1964) *On the Origin of Species. A Facsimile of the First Edition (published in 1859),* Harvard University Press, Cambridge, MA.

Um dos mais influentes trabalhos científicos já publicados.

Dulbecco R. (1987) *The Design of Life,* Yale University Press, New Haven, CT.

Uma introdução excelente e incomum à biologia.

Fruton JS. (1972) *Molecules and Life. Historical Essays on the Interplay of Chemistry and Biology.* Wiley Interscience, New York.

Essa série de ensaios descreve o desenvolvimento da bioquímica desde os estudos de Pasteur sobre a fermentação até os estudos atuais sobre o metabolismo e a transferência de informação.

Fruton JS. (1992) *A Skeptical Biochemist,* Harvard University Press, Cambridge, MA.

Jacob F. (1973) *The Logic of Life: A History of Heredity,* Pantheon Books, Inc., New York. Originalmente publicado em 1970 como *La logique du vivant: une histoire de l'hérédité,* Editions Gallimard, Paris.

Uma fascinante descrição histórica e filosófica da rota pela qual chegamos aó atual conhecimento molecular da vida.

Judson HF. (1979) *The Eighth Day of Creation: The Makers of the Revolution in Biology,* Jonathan Cape, London.

Um interessante e autêntico relato sobre a ascensão da bioquímica e da biologia molecular no século XX.

Kornberg A. (1987) The two cultures: chemistry and biology. *Biochem.* **26,** 6888-6891.

A importância da aplicação de ferramentas químicas aos problemas biológicos, descritos por um experimentador eminente.

Mayr E. (1997) *This is Biology: The Science of the Living World,* Belknap Press, Cambridge, MA.

Uma história do desenvolvimento da ciência, com ênfase especial na evolução darwiniana, por um eminente seguidor da escola de Darwin.

Monod J. (1971) *Chance and Necessity,* Alfred A. Knopf, Inc., New York (Versão brochura da Vintage Books, New York, 1972). Originalmente publicado em 1970 como *Le hasard et la nécessité,* Editions du Seuil, Paris.

Uma exploração das implicações filosóficas do conhecimento biológico.

Schrödinger E. (1944) *What is Life?* Cambridge University Press, New York (Reimpresso, 1956, em *What Is Life? and Other Scientific Essays,* Doubleday Anchor Books, Garden City, NY).

Uma visão provocativa da biologia, escrita por um eminente físico-químico.

CAPÍTULO 2

Células

Células são as unidades estruturais e funcionais de todos os organismos vivos. Os menores organismos consistem de células únicas e são microscópicos, enquanto os organismos maiores são multicelulares. O corpo humano, por exemplo, contém pelo menos 10^{14} células. Organismos unicelulares são encontrados em grande variedade e virtualmente por toda parte, de ambientes desde a Antártica até fontes de águas quentes e o recesso interno dos organismos maiores. Organismos multicelulares contêm muitos tipos de diferentes células, que variam no tamanho, na forma e na função especializada. Independentemente da complexidade e do tamanho do organismo, cada uma de suas células retém alguma individualidade e independência.

Apesar das suas muitas diferenças, células de todas as espécies compartilham certas características estruturais (Fig. 2-1).

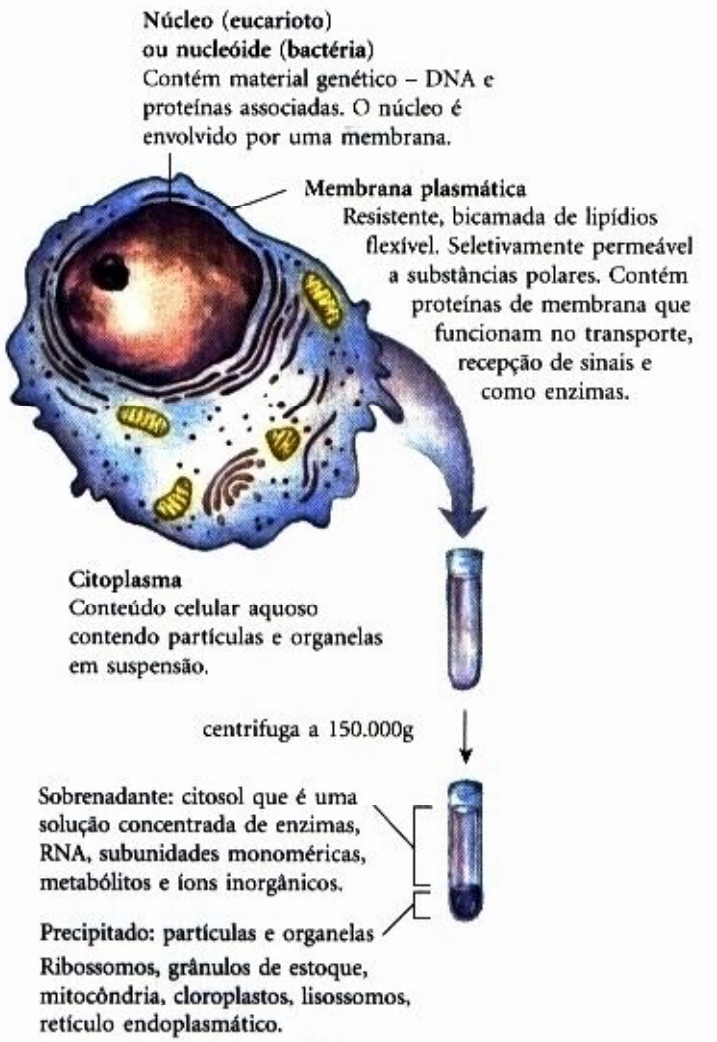


Figura 2-1 – Características universais das células vivas. Todas as células têm um núcleo ou nucleóide, uma membrana plasmática e um citoplasma. O citosol é operacionalmente definido como aquela parte do citoplasma que permanece no sobrenadante depois da centrifugação de um extrato celular a 150.000g por 1h.

A **membrana plasmática** define a periferia da célula, separando o seu conteúdo da circunvizinhança. Ela é composta de grande número de moléculas de lipídios e proteínas, mantidas juntas principalmente por interações hidrofóbicas não-covalentes (pág. 14), formando uma bicamada hidrofóbica fina, resistente e flexível, em volta da célula. A membrana é uma barreira à livre passagem de íons inorgânicos e à maioria de outros compostos polares ou carregados. Proteínas transportadoras da membrana plasmática permitem a passagem de certos íons e moléculas. Outras proteínas da membrana incluem os receptores, que transmitem sinais do exterior para o interior da célula, e as enzimas, que participam de reações em vias associadas a membranas.

Pelo fato de os lipídios individuais e as proteínas da membrana plasmática não serem ligados covalentemente, a estrutura inteira é surpreendentemente flexível, permitindo alterações na forma e no tamanho da célula. À medida que uma célula cresce, moléculas de lipídios e proteínas recém-sintetizadas são inseridas na sua membrana plasmática; a divisão celular produz duas células, cada uma com sua própria membrana. Crescimento e fissão ocorrem sem perda da integridade da membrana. Numa reversão do processo de fissão, duas superfícies de membranas separadas podem-se fundir, também sem perda da integridade. Fusão e fissão da membrana são centrais aos mecanismos de transporte para o interior e o exterior das células, conhecidos como endocitose e exocitose, respectivamente.

O volume interno limitado pela membrana plasmática, o **citoplasma**, é composto de uma solução aquosa, o **citosol**, e de uma variedade de partículas insolúveis suspensas (Fig. 2-1). O citosol é uma solução aquosa altamente concentrada com uma composição complexa e uma consistência gelatinosa. Dissolvidas no citosol estão muitas enzimas e as moléculas de RNA que as codificam; as subunidades monoméricas (aminoácidos e nucleotídeos) a partir das quais essas macromoléculas são montadas; centenas de pequenas moléculas orgânicas chamadas de **metabólitos**, intermediários nas vias biossintetizantes e degradativos; as **coenzimas**, compostos de peso molecular intermediário (M_r 200 a 1.000) que são participantes essenciais em muitas reações catalisadas por enzimas; e os íons inorgânicos.

Entre as partículas suspensas no citosol estão os complexos supramoleculares e, em quase todas as células não bacterianas, uma variedade de organelas limitadas por membrana onde está localizada a maquinaria metabólica especializada. **Ribossomos**, pequenas partículas de 18 a 22μm de diâmetro (1mm é igual a 10^{-9}m) as quais são compostas acima de 50 diferentes moléculas de proteínas e RNA, são os locais onde ocorre a síntese protéica. Os ribossomos envolvidos na síntese das proteínas, freqüentemente, ocorrem em agregados chamados de **polissomos** (polirribossomos), mantidos juntos por uma fita de RNA mensageiro. Também estão presentes no citoplasma de muitas células os grânulos que contêm nutrientes armazenados, como o amido e a gordura.

Todas as células vivas possuem em pelo menos uma parte da sua vida um **núcleo** ou um **nucleóide**, onde o **genoma** (o conjunto completo de genes, compostos de DNA) é armazenado e replicado. As moléculas de DNA são sempre muito mais longas do que as próprias células e são firmemente dobradas e empacotadas dentro do núcleo ou nucleóide como complexos supramoleculares de DNA com proteínas específicas. O nucleóide bacteriano não é separado do citoplasma por uma membrana, mas nos organismos superiores o material nuclear é envolto por uma membrana dupla, o envelope nuclear. As células com envelope nuclear são chamadas de **eucariotos** (do grego *eu*, "verdadeiro", e *karyon*, "núcleo"); aquelas sem envelope nuclear — células bacterianas — são os **procariotos** (do grego *pro*, "antes").

Ao contrário das bactérias, os eucariotos possuem uma variedade de outras organelas limitadas por membrana no seu citoplasma, incluindo mitocôndrias, retículo endoplasmático, complexo de Golgi, lisossomos e vacúolos (organelas encontradas em células de animal e plantas, respectivamente), e nas células fotossintetizantes, os cloroplastos.

Neste capítulo revisaremos rapidamente as relações evolucionárias entre algumas células e organismos comumente estudados e as características estruturais que distinguem as células de vários tipos. Nosso foco principal estará nas células eucarióticas. Também serão discutidos rapidamente os parasitas celulares conhecidos como vírus.

Dimensões Celulares

A maioria das células é de tamanho microscópico, invisível ao olho desarmado. Células animais e de plantas possuem tipicamente de 5 a 100μm de diâmetro e muitas bactérias têm apenas 1 a 2μm de comprimento (1μm é igual a 10^{-6}m).

O que limita a dimensão de uma célula? O limite inferior é provavelmente estabelecido pelo número mínimo de cada uma das diferentes biomoléculas requeridas pela célula. As menores células completas, certas bactérias conhecidas como micoplasma, possuem 300nm de diâmetro e têm um volume de aproximadamente 10^{-14}mL. Um único ribossomo possui cerca de 20nm na sua maior dimensão, de forma que alguns ribossomos ocupam uma fração substancial do volume da célula. Numa célula, uma solução 1μM de um composto (uma concentração típica para alguns metabólitos menores) representa apenas 6.000 moléculas.

O limite superior do tamanho celular é provavelmente estabelecido pela velocidade de difusão das moléculas dos solutos nos sistemas aquosos. Uma célula bacteriana que dependa de reações que consumam oxigênio para a produção de energia (uma célula **aeróbica**) deve obter oxigênio molecular (O_2) do meio circundante pela difusão através da sua membrana plasmática. A célula é tão pequena e a relação da área da sua superfície com o seu volume é tão grande, que todas as partes do citoplasma são facilmente alcançadas pelo O_2 que se difunde dentro da célula. À medida que o tamanho de uma célula aumenta, sua razão superfície/volume diminui, até que o metabolismo consuma O_2 mais rápido do que a difusão possa suprir. O metabolismo aeróbico torna-se, portanto, impossível à medida que o tamanho celular aumenta além de um certo ponto, impondo um limite superior teórico ao tamanho da célula aeróbica.

Há exceções interessantes a essa generalização de que a célula deva ser pequena. A alga verde *Nitella* possui células gigantes de vários centímetros de comprimento. Para garantir a chegada de nutrientes, de metabólitos e da informação genética (RNA) para todas as suas partes, cada célula é vigorosamente "agitada" por correntes citoplasmáticas ativas (veja Fig. 2-18). A forma de uma célula também pode ajudar a compensar o seu longo tamanho. Uma esfera lisa possui a menor razão possível superfície/volume para um dado volume. Muitas células grandes, embora aproximadamente esféricas, possuem superfície altamente convoluta (Fig. 2-2a), criando grandes áreas de superfície para o mesmo volume e, portanto, facilitando a captação de combustíveis e nutrientes, além da liberação de produtos de excreção para o meio circundante. Outras células (neurônios, por exemplo) possuem uma elevada razão superfície/volume pelo fato de serem longas e delgadas, em forma de estrela ou altamente ramificadas (Fig. 2-2b), em vez de esféricas.

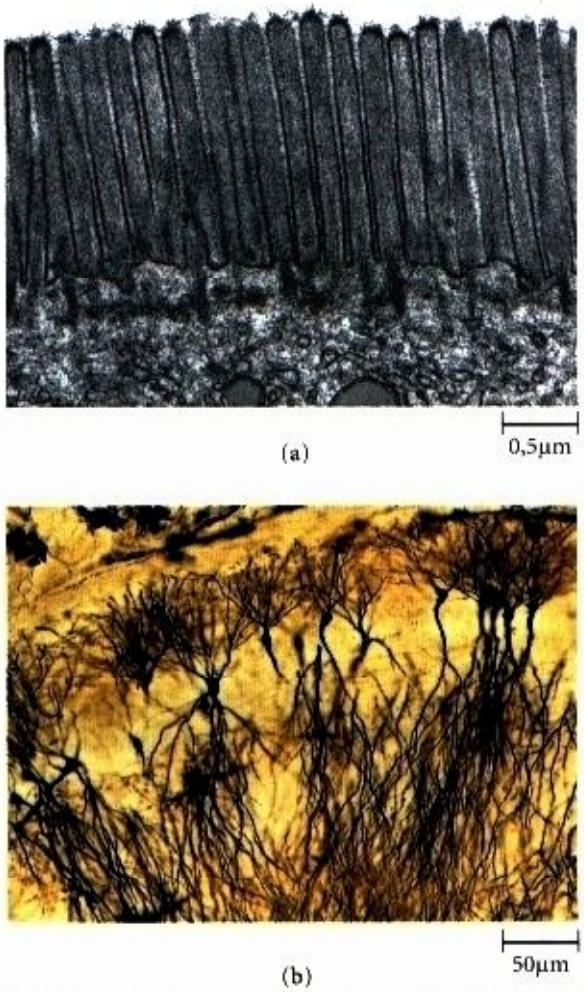


Figura 2-2 – Convoluções da membrana plasmática, ou extensões finas e longas do citoplasma, aumentam a razão entre a superfície e o volume das células. (**a**) Células da mucosa intestinal (o revestimento interno do intestino delgado); a membrana plasmática revestindo a luz intestinal apresenta dobraduras com microvilosidades, aumentando a área para a absorção dos nutrientes pelo intestino. (**b**) Neurônios do hipocampo do cérebro de rato possuem vários milímetros de comprimento, mas suas longas extensões (axônios) têm apenas 10nm de espessura.

Células e Tecidos Usados em Estudos Bioquímicos

Pelo fato de todas as células vivas terem-se desenvolvido dos mesmos progenitores, elas compartilham certas semelhanças fundamentais. Estudos bioquímicos cuidadosos de apenas alguns tipos de células, embora diferentes nas minúcias bioquímicas e variados na aparência superficial, devem entretanto gerar princípios gerais aplicáveis a todas as células e organismos. O efervescente conhecimento em biologia nos últimos 150 anos tem apoiado essa proposição repetitivamente. Certas células, tecidos e organismos têm-se mostrado mais apropriados ao estu-

do experimental do que outros. O conhecimento em bioquímica é primariamente derivado de alguns organismos e tecidos representativos como a bactéria *Escherichia coli*, a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, as algas fotossintetizantes, tais como *Chlamydomonas*, as folhas de espinafre, o fígado de rato e o músculo esquelético de vários vertebrados. Alguns estudos bioquímicos focalizam o isolamento, a purificação e a caracterização de componentes celulares; outras pesquisas investigam as vias metabólicas e genéticas das células vivas.

Um experimentador idealmente começa o isolamento de enzimas e de outros componentes celulares com uma fonte de material homogêneo e abundante. O componente de interesse (como uma enzima ou ácido nucléico) freqüentemente representa apenas uma fração minúscula do material total, e gramas ou mesmo quilogramas do material inicial são necessários para se obter apenas alguns miligramas do componente purificado. Uma fonte homogênea de uma enzima ou ácido nucléico, em que todas as células sejam bioquímica e geneticamente idênticas, não deixa nenhuma dúvida sobre que tipo celular produz o componente purificado e torna mais seguro extrapolar os resultados dos estudos *in vitro* para a situação *in vivo*. Uma cultura em larga escala de células bacterianas ou protistas (*E. coli*, *S. cerevisiae* ou *Chlamydomonas*, por exemplo), todas derivadas por divisão do mesmo ancestral e portanto geneticamente idênticas, preenche o requisito de uma fonte homogênea e abundante. Tecidos individuais de animais de laboratório (fígado de rato, cérebro de porco, músculo de coelho) são fontes abundantes de células semelhantes, embora não idênticas. Algumas células animais e de plantas proliferam em culturas de tecidos, produzindo populações de células idênticas (clones) em quantidades apropriadas para a análise bioquímica.

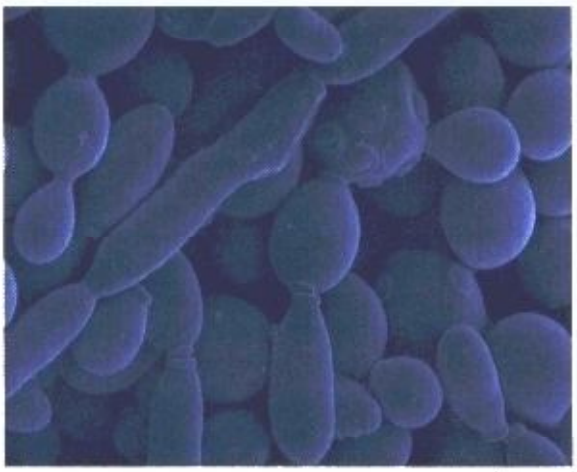
Mutantes genéticos, nos quais um defeito num único gene produz uma proteína defeituosa, a qual causa um defeito funcional específico na célula ou organismo, são extremamente úteis no estabelecimento de que um certo componente celular é essencial para uma função celular particular. Pelo fato de ser tecnicamente muito mais fácil produzir e detectar mutantes em bactérias e na levedura, esses organismos (*E. coli* e *S. cerevisiae*, por exemplo) têm sido os alvos experimentais favoritos para os geneticistas bioquímicos.

Uma vez que o gene para uma proteína tenha sido isolado, pode-se muitas vezes ser inserido em uma célula bacteriana ou levedura, as quais atuam como fábricas biológicas, superproduzindo a proteína. Com técnicas de engenharia genética, os experimentadores podem introduzir mutações específicas em certos genes e determinar seus efeitos sobre a estrutura e função da proteína.

Um organismo que seja fácil de ser cultivado no laboratório, com um tempo de geração curto, oferece vantagens significativas para a pesquisa bioquímica. Um organismo que requeira apenas umas poucas moléculas precursoras simples no seu meio de crescimento pode ser cultivado na presença de um precursor radioativamente marcado e este ter o seu destino metabólico convenientemente traçado, seguindo-se a incorporação dos átomos radioativos nos seus produtos metabólicos. O curto tempo de geração dos microrganismos (minutos ou horas) permite ao investigador seguir o precursor marcado ou um defeito genético através de muitas gerações em alguns dias. Nos organismos superiores, com tempo de geração de meses ou anos, isso é praticamente impossível.

Alguns tecidos altamente especializados dos organismos multicelulares são notavelmente enriquecidos de algum componente particular relacionado à sua função especializada. Para os estudos sobre funções ou componentes específicos, os bioquímicos comumente escolhem o tecido especializado para os sistemas experimentais, por exemplo, o músculo esquelético dos vertebrados é uma fonte rica de actina e miosina; as células secretórias do pâncreas contêm altas concentrações de retículo endoplasmático rugoso; as células do espermatozóide são ricas em DNA, o fígado contém altas concentrações de muitas enzimas das vias biossintetizantes; as folhas do espinafre contêm grandes quantidades de cloroplastos.

Uma célula de *Escherichia coli* em divisão.



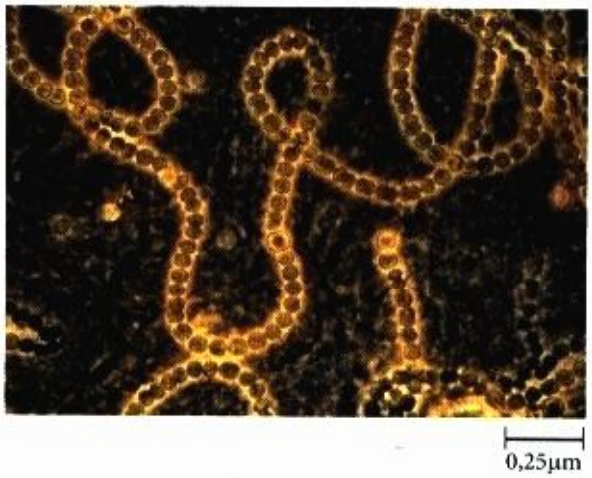
Células de *Saccharomyces cerevisae* (levedura) em divisão.

Algumas vezes, a simplicidade da estrutura ou função torna uma célula ou organismo particular atraente como sistema experimental. Para o estudo da estrutura e função da membrana plasmática, o eritrócito maduro (glóbulo vermelho) tem sido um favorito, porque ele não tem membranas internas para complicar a purificação da membrana plasmática. Alguns vírus bacterianos (bacteriófagos) possuem poucos genes. Suas moléculas de DNA são, portanto, menores e mais simples do que aquelas do homem ou do milho e mostrou-se ser mais fácil estudar a replicação nesses vírus do que nos cromossomos humanos ou do milho. Provou-se ser mais fácil estudar a replicação do DNA com esses vírus do que com cromossomos eucarióticos, porque, quando um vírus infecta a célula bacteriana, acontece uma rápida e sincrônica síntese de DNA, muitas vezes acompanhada por um aumento dos níveis das enzimas da replicação do DNA.

A descrição bioquímica das células vivas neste livro é uma composição baseada no estudo de muitos tipos de células. O bioquímico deve sempre ser cauteloso na generalização de resultados obtidos em estudo de células, tecidos ou organismos selecionados e no relacionar o que é observado *in vitro* com o que acontece dentro da célula viva.

Evolução e Estrutura das Células Procarióticas

Dois grandes grupos de procariotos podem ser distinguidos em solo bioquímico: a **arqueobactéria** (do grego *archē*, "origem") e a **eubactéria** (do grego *eu*, "real"). A eubactéria habita o solo, a superfície das águas e os tecidos de outros organismos vivos ou em decomposição. A mais comum e mais bem estudada bactéria, incluindo a *E. coli*, são as eubactérias. As arqueobactérias foram mais recentemente descobertas e menos caracterizadas bioquimicamente. A maioria habita os ambientes mais extremos — águas salgadas, águas quentes, pântanos e regiões profundas dos oceanos. Evidências disponíveis sugerem que a arqueobactéria e a eubactéria divergiram precocemente na evolução e constituem dois reinos ou domínios separados, algumas vezes chamados Bactéria e Arqueo. Todos os organismos eucariotos que constituem o terceiro domínio, Eucario, surgiram da mesma ramificação que deram origem ao Arqueo; arqueobactérias todavia estão mais proximamente relacionadas com eucariotos do que com as eubactérias. Com a disponibilidade da completa seqüência genômica para a arqueobactéria (como por exemplo a *Methanococcus jannaschii*) e para a eubactéria (*E. coli*), a extensão da divergência entre esses domínios de vida tornou-se completamente aparente: menos da metade dos genes da *M. jannaschii* possui homólogos reconhecidos em *E. coli*. Além disso, os genes que codificam as proteínas requeridas para a replicação do DNA, a transcrição do RNA e a síntese protéica na arqueobactéria *M. jannaschii* são em geral do mesmo tipo dos encontrados em eucariotos e distintamente diferentes dos envolvidos no mesmo processo em eubactéria.



Nostoc sp., uma cianobactéria fotossintetizante. Esta simples micrografia mostra longos colares das células individuais arredondadas.

Os organismos podem ser divididos em duas vastas categorias, segundo suas fontes de energia: **fototrópicos** (do grego *trophē*, "alimentação") luz solar como fonte, enquanto os **quimiotrópicos** obtêm sua energia a partir da oxidação de um combustível. Os fototrópicos podem ser ainda divididos naqueles que podem obter todo o carbono necessário a partir do CO_2 (**autotróficos**) e naqueles que requerem nutrientes orgânicos (**heterotróficos**). Nenhum quimiotrópico pode obter seus átomos de carbono exclusivamente a partir do CO_2 (isto é, não há autotróficos nesse grupo), mas os quimiotrópicos podem ser classificados ainda por diferentes critérios: se os combustíveis que eles oxidam são inorgânicos (**litotróficos**) ou orgânicos (**organotróficos**). A maioria dos organismos conhecidos pertence a estas quatro grandes categorias: autotróficos ou heterotróficos entre os fotossintetizantes e litotróficos ou organotróficos entre os oxidantes químicos (Fig. 2-3). Então os procariotos têm várias maneiras de obter carbono e energia. A *E. coli*, por exemplo, é um quimiorganoeterotrófico, requer compostos orgânicos do seu ambiente como combustível e como fonte de carbono. As cianobactérias são fotolitoautotróficas, elas usam a luz solar como fonte de energia e convertem CO_2 para as biomoléculas.

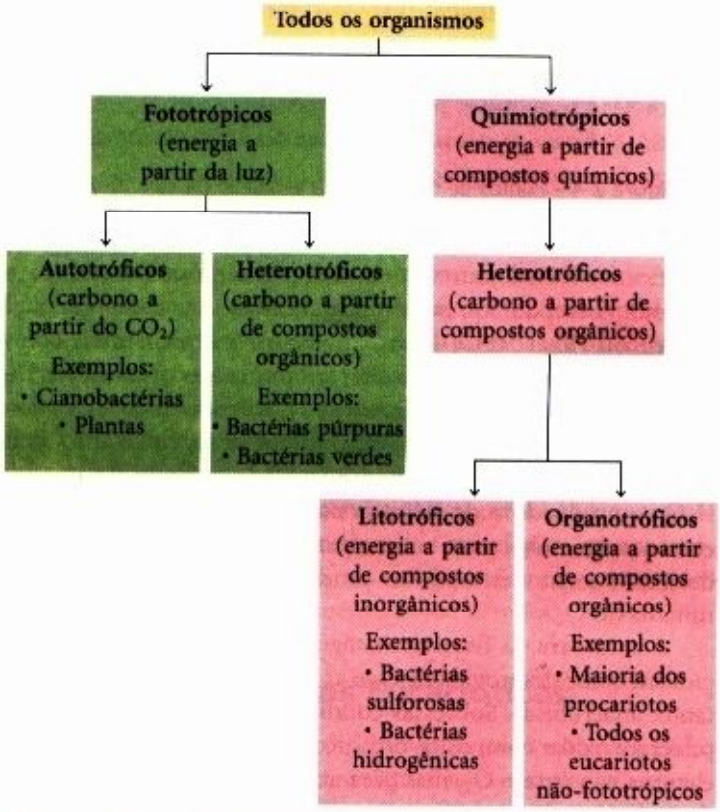


Figura 2-3 – Os organismos podem ser classificados de acordo com sua fonte de energia (luz solar ou compostos químicos oxidáveis) e sua fonte de carbono para a síntese de material celular.

Dentro dos domínios de Bactéria e Arqueo estão subgrupos distinguíveis pelos hábitats nos quais eles vivem. Em hábitats aeróbicos com um abundante suprimento de oxigênio, alguns organismos residentes vivem por meio do metabolismo aeróbico; os seus processos catabólicos terminam, em última análise, na transferência de elétrons das moléculas combustíveis para o oxigênio. Outros ambientes são **anaeróbicos**, virtualmente desprovidos de oxigênio, e os microrganismos adaptados a esses ambientes conduzem o catabolismo sem ele. Essas bactérias transferem elétrons para nitrato (formando N_2), sulfato (formando H_2S) ou CO_2 (formando metano, CH_4). Muitos organismos que tiveram origem em ambientes anaeróbicos são obrigatoriamente anaeróbios; eles morrem quando expostos ao oxigênio.

Como mostra a Figura 2-4, as células iniciais provavelmente surgiram há 3,5 bilhões ($3,5 \times 10^9$) de anos, numa mistura rica de compostos orgânicos, a "sopa primordial", dos tempos pré-bióticos; eles eram quase certamente quimioeterotróficos. Os compostos orgânicos requeridos foram originalmente sintetizados a partir desses componentes da atmosfera terrestre inicial, como o CO, CO_2, N_2 e CH_4, pelas ações não biológicas do calor vulcânico e luminoso (Capítulo 3). Os heterotróficos primitivos gradualmente adquiriram a capacidade de obter sua energia de certos compostos do seu ambiente e usar essa energia para sintetizar cada vez mais as suas próprias moléculas precursoras; tornando-se, portanto, menos dependentes das fontes externas dessas moléculas. Um evento evolucionário muito

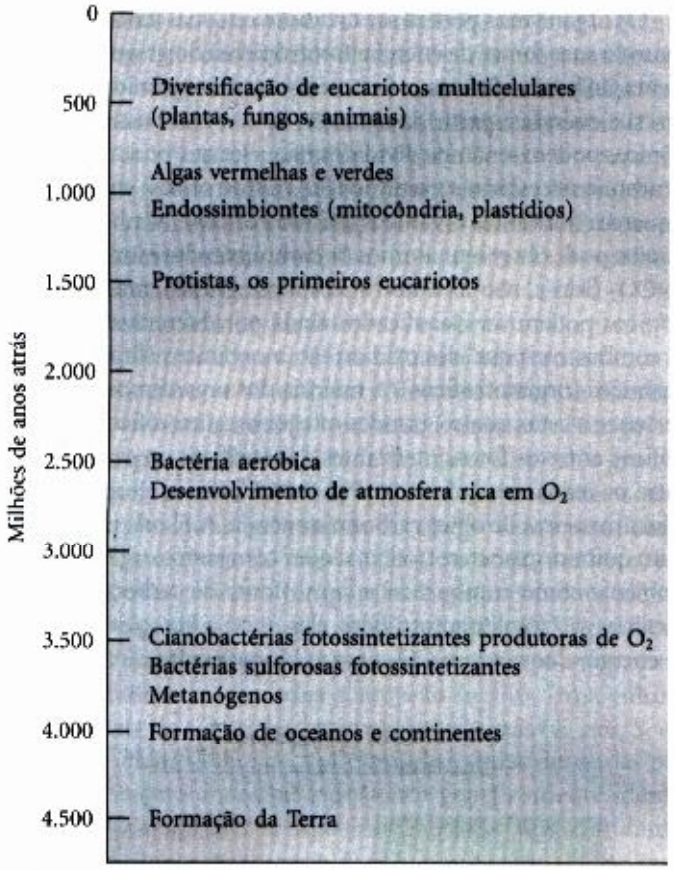


Figura 2-4 – Pontos de referência na evolução da vida na Terra.

significativo foi o desenvolvimento de pigmentos capazes de captar a luz visível do Sol, permitindo a célula usar a energia para reduzir ou "fixar" o CO_2 em compostos orgânicos mais complexos. O doador original de elétrons para esses organismos **fotossintetizantes** foi provavelmente o H_2S, produzindo o elemento enxofre ou sulfato (SO_4^{2-}) como subproduto, entretanto mais tarde as células desenvolveram a capacidade enzimática para usar H_2O como doadora de elétrons nas reações fotossintetizantes, eliminando o O_2 como subproduto. As cianobactérias são os descendentes modernos desses produtores fotossintetizantes primitivos do O_2.

A atmosfera da Terra nos estágios iniciais da evolução biológica era quase desprovida de O_2 e as primeiras células foram, portanto, anaeróbicas. Sob essas condições, os quimioeterotróficos puderam oxidar compostos orgânicos para CO_2 pela passagem de elétrons não para o O_2, mas para aceptores tais como SO_4^{2-}, produzindo H_2S como produto. Com o surgimento das bactérias fotossintetizantes, produtoras de O_2, a atmosfera terrestre tornou-se progressivamente mais rica em O_2, um poderoso veneno oxidante e mortal para os anaeróbios adaptados ao moderado ambiente. Respondendo à pressão evolucionária do então chamado "holocausto do oxigênio", algumas linhagens de microrganismos deram origem aos aeróbios que obtinham energia pela passagem de elétrons a partir de moléculas combustíveis para o oxigênio. Pelo fato de as transferências de elétrons a partir de moléculas orgânicas para o O_2 produzirem uma grande quantidade de energia (elas são muito exergônicas, veja Capítulo 1), os organismos aeróbicos desfrutam uma vantagem energética sobre sua contrapartida anaeróbica, quando ambos competem num ambiente contendo O_2. Essa vantagem se traduz pela predominância de organismos aeróbicos nos ambientes ricos em O_2.

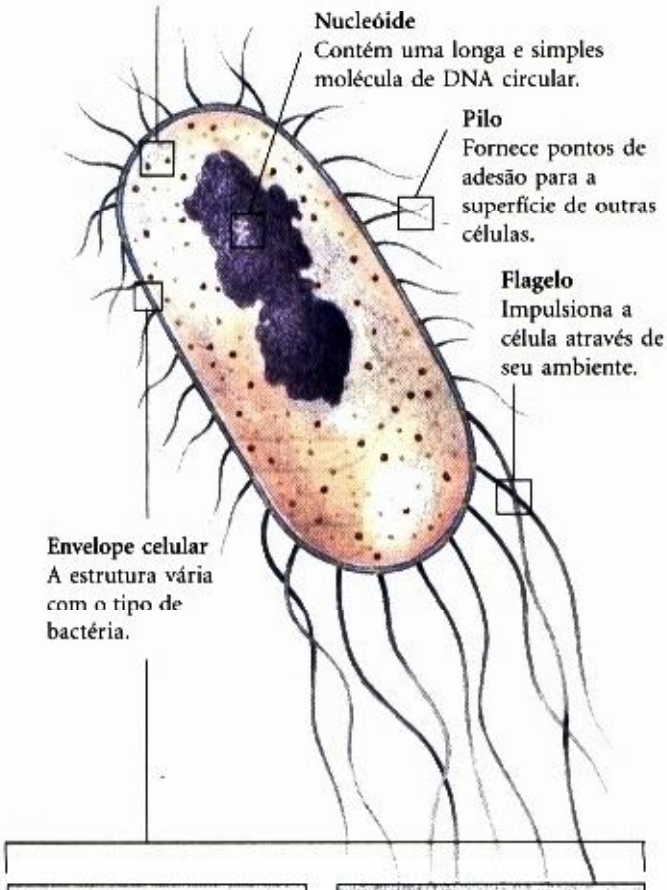
As bactérias modernas habitam quase todos os nichos ecológicos na biosfera, há espécies de bactérias capazes de usar praticamente todo tipo de composto orgânico como fonte de carbono e energia. Bactérias fotossintetizantes em águas marinhas ou frescas captam energia solar e a usam para gerar carboidratos e todos os outros constituintes celulares, os quais são por outro lado usados como alimento pelas outras formas de vida. Um potencial limitante para crescer na reserva da biosfera é a disponibilidade de compostos contendo nitrogênio e aqui as bactérias são uma ligação essencial na rede global de alimentos. Umas poucas linhagens de bactérias, chamadas de **diazotróficas**, são os únicos organismos sobre a Terra que podem converter metabolicamente o nitrogênio atmosférico (N_2) para compostos biologicamente necessários, em um processo conhecido como **fixação de nitrogênio**. Reações impulsionadas pela luminosidade e a indústria fertilizante também contribuem significativamente para o balanço global de nitrogênio fixado. Entretanto, estas últimas fontes de nitrogênio biodisponível não são necessariamente as fontes imediatas de suprimento para a biosfera. A maioria dos compostos de nitrogênio captados pelos organismos é reciclada a partir do rejeito orgânico e aqui, outra vez, as bactérias exercem um papel essencial na rede global, atuando como últimos consumidores, degradando o material orgânico de plantas e animais mortos e reciclando os produtos finais para o ambiente.

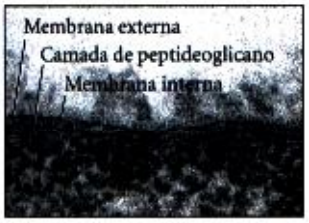
A *Escherichia coli* é a célula procariótica mais bem estudada

As células bacterianas compartilham certas características estruturais comuns, mas também apresentam especializações grupo-específicas (Fig. 2-5). A *E. coli* é um habitante usualmente inofensivo do trato intestinal dos seres humanos e de muitos outros mamíferos. A célula da *E. coli* tem cerca de 2μm de comprimento e um pouco menos de 1μm de diâmetro, tem uma membrana externa protetora e uma membrana plasmática interna que envolve o citoplasma e o nucleóide. Entre as membranas interna e externa há uma fina, mas forte, camada de peptideoglicanos (polímeros de açúcar unidos por ligações cruzadas de aminoácidos), que fornece à célula sua forma e rigidez. A membrana plasmática e as camadas externas constituem o **envelope celular**. Diferenças no envelope celular são responsáveis pelas afinidades diferentes para o corante violeta de genciana que é a base do corante de Gram; as bactérias gram-positivas retêm o corante, e as bactérias gram-negativas não. A membrana externa da *E. coli*, como a de outras eubactérias gram-negativas, é semelhante à membrana plasmática na estrutura, mas é diferente na composição. Nas bactérias gram-positivas (*Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, por exemplo) não há membrana externa e a camada de peptideoglicanos que envolve a membrana plasmática é muito mais espessa do que nas bactérias gram-negativas. Na Arqueo, a rigidez é conferida por um tipo diferente de ligações cruzadas de polímero de açúcar ("pseudopeptideoglicano"). As membranas plasmáticas das eubactérias consistem de uma fina bicamada de moléculas de lipídios penetrada por proteínas. As membranas das arqueobactérias possuem uma arquitetura semelhante, embora os seus lipídios difiram dos das eubactérias.

A membrana plasmática contém proteínas capazes de transportar certos íons e compostos para dentro da célula e transportar produtos e resíduos para fora. Também na membrana plasmática da maioria das eubactérias estão as proteínas transportadoras de elétrons (citocromos), essenciais na formação do ATP a partir do ADP (Capítulo 1). Na bactéria fotossintetizante, as membranas internas derivadas da membrana plasmática contêm clorofila e outros pigmentos que captam a luz.

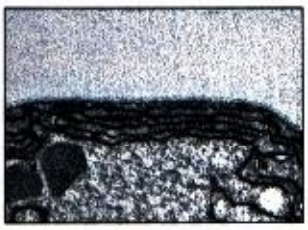
Ribossomos
Os ribossomos bacterianos são menores do que os ribossomos eucarióticos, mas apresentam a mesma função — síntese protéica a partir de um RNA mensageiro.



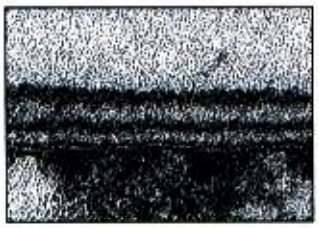


Bactéria gram-negativa
Membrana externa e camada de peptideoglicano

Bactéria gram-positiva
Camada de peptideoglicano mais grossa; membrana externa ausente



Cianobactéria
Tipo de bactéria gram-negativa com camada de peptideoglicano flexível e extenso sistema de membranas internas contendo pigmentos fotossintetizantes



Arqueobactéria
Camada de pseudopeptideoglicano fora da membrana plasmática; ausência de membrana externa

Figura 2-5 – Características estruturais comuns das células bacterianas. Por causa das diferenças na estrutura da parede celular, algumas eubactérias (bactérias gram-positivas) retêm o corante do Gram e outras não (bactérias gram-negativas). A *E. coli* é gram-negativa. As cianobactérias são também eubactérias, mas se distinguem pelo seu extenso sistema de membrana interna, em que estão localizados os pigmentos fotossintetizantes. Embora a parede celular de arquebactéria e a de eubactéria gram-positiva pareçam semelhantes à microscopia eletrônica, as estruturas da membrana de lipídios e dos polissacarídeos da parede celular são distintamente diferentes nesses organismos.

A partir da membrana externa, células da *E. coli* e de algumas outras eubactérias projetam estruturas curtas, semelhantes a um cabelo, chamadas de **pilos**, pelas quais as células aderem à superfície de outras células. Cepas de *E. coli* e outras bactérias móveis possuem um ou mais **flagelos**, que podem propelir a bactéria através da sua vizinhança aquosa. Os flagelos bacterianos são bastões helicoidais, finos, rígidos, de 10 a 20nm de espessura e alcançando várias centenas de micrômetros de comprimento. Eles estão ligados a um motor rotatório, uma estrutura protéica que gira no plano da superfície celular, rodando o flagelo.

O citoplasma da *E. coli* contém cerca de 15.000 ribossomos, milhares de cópias de cada um dos vários milhares de enzimas diferentes, numerosos metabólitos e co-fatores e uma variedade de íons inorgânicos. Sob algumas condições, grânulos de polissacarídeos ou gotículas de lipídios se acumulam. O nucleóide contém uma molécula circular única de DNA. Embora a molécula de DNA de uma célula da *E. coli* seja quase 1.000 vezes maior do que a própria célula, ela é empacotada com proteínas e firmemente dobrada no nucleóide, que é menor que 1μm na sua maior dimensão. Como em todas as bactérias, nenhuma membrana envolve o material genético. Além do DNA no nucleóide, o citoplasma da maioria das bactérias contém segmentos circulares de DNA menores chamados de **plasmídios**. Na natureza, alguns plasmídios conferem resistência a toxinas e antibióticos no ambiente. No laboratório, esses segmentos de DNA não-essenciais são especialmente apropriados à manipulação experimental e extremamente úteis aos geneticistas moleculares.

Há uma divisão de trabalho dentro da célula bacteriana. O envelope celular, que inclue a membrana plasmática, regula o fluxo de materiais para dentro e para fora da célula e protege a célula de agentes ambientais nocivos. A membrana plasmática e o citoplasma contêm uma variedade de enzimas essenciais ao metabolismo energético e à síntese de moléculas precursoras; os ribossomos fabricam proteínas; o nucleóide armazena e transmite a informação genética. A maioria das bactérias leva uma existência que é quase independente de outras células, mas algumas espécies bacterianas tendem a se associar em agrupamentos ou filamentos e algumas (as mixobactérias, por exemplo) demonstram um comportamento social simples.

Evolução das Células Eucarióticas

Fósseis mais antigos do que 1,5 bilhão de anos estão limitados àqueles organismos pequenos e relativamente simples, semelhantes na forma e no tamanho aos procariotos modernos. Iniciando-se há cerca de 1,5 bilhão de anos, os registros fósseis começam a mostrar evidência de organismos mais complexos e maiores, provavelmente as primeiras células eucarióticas (Fig. 2-4). Detalhes da via evolucionária dos procariotos para os eucariotos não podem ser deduzidos apenas a partir dos registros fósseis, entretanto comparações morfológicas e bioquímicas de organismos modernos sugerem uma seqüência razoável de eventos consistentes com a evidência fóssil.

As células eucarióticas evoluíram das procarióticas em várias etapas

Três alterações principais devem ter ocorrido quando os procariotos deram origem aos eucariotos (Fig. 2-6). Primeiro, as células adquiriram mais DNA, surgiram mecanismos que o dobraram e o compactaram em discretos complexos com proteínas específicas e dividiram-no igualmente entre as células filhas durante a divisão celular. Esses complexos DNA-proteína, os

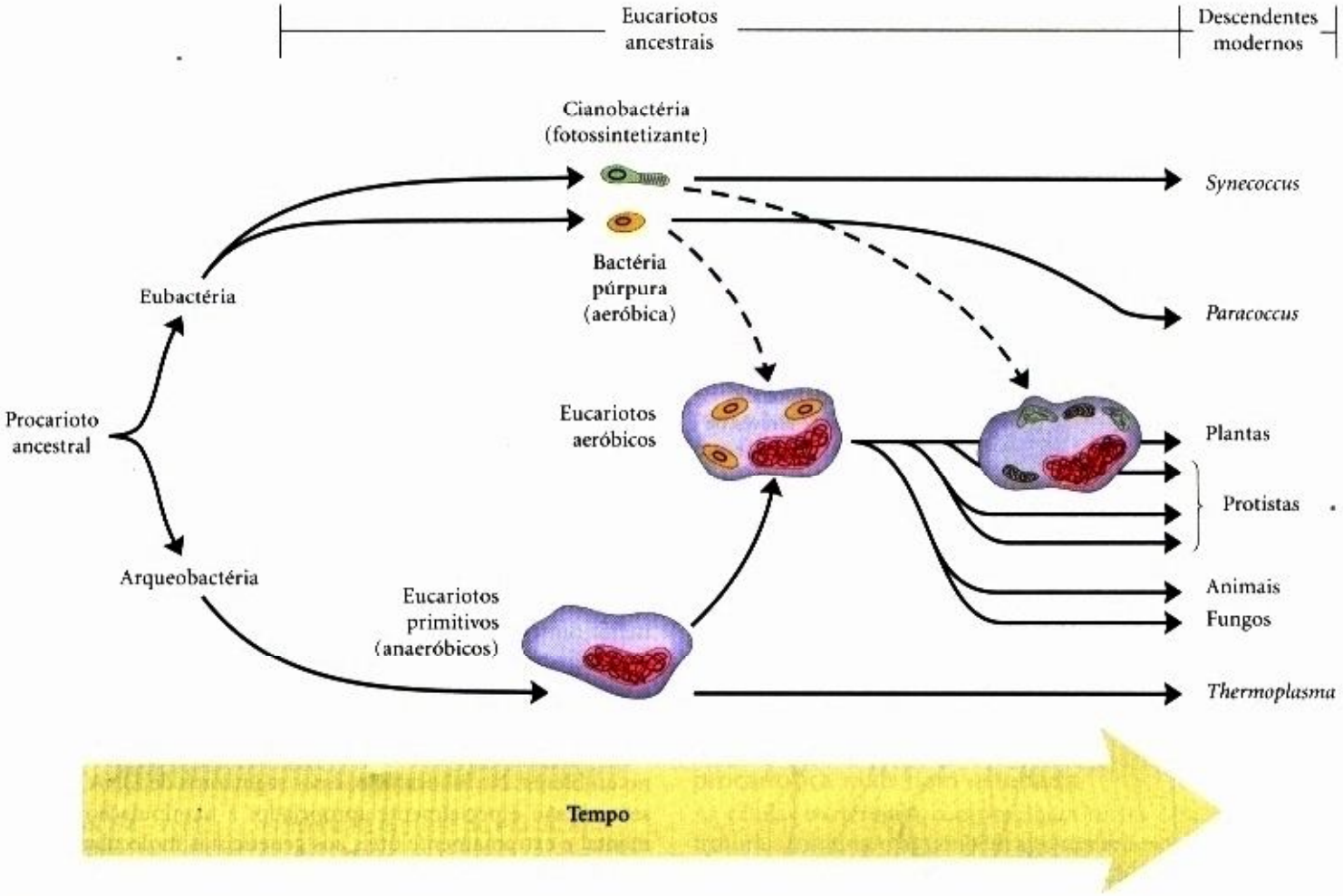


Figura 2-6 – Evolução dos eucariotos. Os organismos modernos podem ter se originado a partir de um ancestral procarioto comum por meio de uma série de associações endossimbióticas. O eucarioto anaeróbico primitivo derivou suas estruturas nucleares (vermelho) a partir de uma arqueobactéria, e suas estrututras movéis (não mostradas), a partir de uma eubactéria anaeróbica com a qual se fundiu. Esse eucarioto primitivo mais tarde adquiriu a bactéria púrpura endossimbiótica (laranja), a qual adquiriu sua capacidade para catabolismo aeróbico e se tornou mais tarde a mitocôndria. Quando a cianobactéria fotossintetizante (verde) se tornou subseqüentemente endossimbionte de alguns eucariotos aeróbicos, essas células se tornaram os precursores fotossintetizantes das modernas algas verdes e plantas.

cromossomos (do grego *chroma*, "cor", e *soma*, "corpo"), tornam-se especialmente compactados no instante da divisão celular, quando podem ser visualizados ao microscópio óptico como fios de **cromatina**.

Segundo, à medida que as células se tornaram maiores, um sistema de membranas intracelulares se desenvolveu, incluindo a membrana dupla que envolve o DNA. Essa membrana separa o processo nuclear da síntese de RNA usando o DNA como molde do processo citoplasmático da síntese das proteínas nos ribossomos. Finalmente, as células eucarióticas primitivas, que eram incapazes de realizar fotossíntese ou metabolismo anaeróbico, misturaram suas vantagens com as das bactérias aeróbicas ou fotossintetizantes para formar **associações endossimbióticas** que se tornaram permanentes. Algumas bactérias aeróbicas evoluíram para as mitocôndrias dos eucariotos modernos e algumas cianobactérias fotossintetizantes tornaram-se os plastídios, tais como os cloroplastos das algas verdes, os prováveis ancestrais das modernas células das plantas. As células procarióticas e eucarióticas são comparadas na Tabela 2-1.

As células eucarióticas primitivas deram origem a diversos protistas

Com o surgimento das células eucarióticas primitivas, o passo seguinte da evolução levou a uma tremenda diversidade de organismos unicelulares eucarióticos (**protistas**). Alguns deles (os com cloroplastos) assemelhavam-se aos protistas fotossintetizantes modernos como a *Euglena* e as *Chlamydomonas*; outros protistas não-fotossintetizantes eram mais parecidos com o *Paramecium* ou o *Dictyostelium*. Os eucariotos unicelulares são abundantes e as células de todos os organismos multicelulares, animais, plantas e fungos são eucarióticas.

Principais Características Estruturais das Células Eucarióticas

As células eucarióticas típicas (Fig. 2-7) são muito maiores do que as células procarióticas, comumente de 5 a 100μm de diâmetro, com volumes celulares de milhares a milhões de vezes maiores do que aqueles das bactérias. A característica diferenciadora dos eucariotos é o núcleo com uma estrutura interna complexa, envolvida por uma membrana dupla. Outra diferença marcante entre eucariotos e procariotos é que os eucariotos contêm várias outras organelas limitadas por membranas. Os itens a seguir descrevem com mais detalhes as estruturas e os papéis dos componentes das células eucarióticas.

A membrana plasmática contém transportadores e receptores

A superfície externa de uma célula está em contato com outras células, com o fluido extracelular e os solutos, assim como com moléculas nutrientes, hormônios, neurotransmissores e antígenos presentes naquele fluido. As membranas plasmáticas de to-

Tabela 2-1 – Comparação de células procarióticas com eucarióticas

Características	Célula procariótica	Célula eucariótica
Tamanho	Geralmente pequeno (1-10μm)	Geralmente grande (5-100μm)
Genoma	DNA com proteínas não-histonas, genoma no nucleóide, não envolvido por membrana	DNA complexado com proteínas histonas e não-histonas em cromossomos; cromossomos no núcleo com envelope membranoso
Divisão celular	Fissão ou brotamente, não há mitose	Mitose incluindo fuso mitótico; centríolos em muitas espécies
Organelas ligadas a membranas	Ausentes	Mitocôndria, cloroplastos (em plantas e algumas algas), retículo endoplasmático, complexos de Golgi, lisossomos (em animais etc.)
Nutrição	Absorção, alguns fotossintetizantes	Absorção, ingestão, fotossíntese em algumas espécies
Metabolismo energético	Não há mitocôndria, enzimas oxidativas ligadas à membrana plasmática; grande variação no padrão metabólico	Enzimas oxidativas empacotadas na mitocôndria; padrão mais unificado de metabolismo oxidativo
Citoesqueleto	Nenhum	Complexo, com microtúbulos, filamentos intermediários, filamentos de actina
Movimento intracelular	Não possui	Citoplasma fluídico, endocitose, fagocitose, mitose, vesícula de transporte

Fonte: Modificado de Hickman CP, Roberts LS & Hickman FM. (1990) *Biology of Animals*, 5th edn, p. 30 Mosby-Yearbook, Inc., St. Louis, MO.

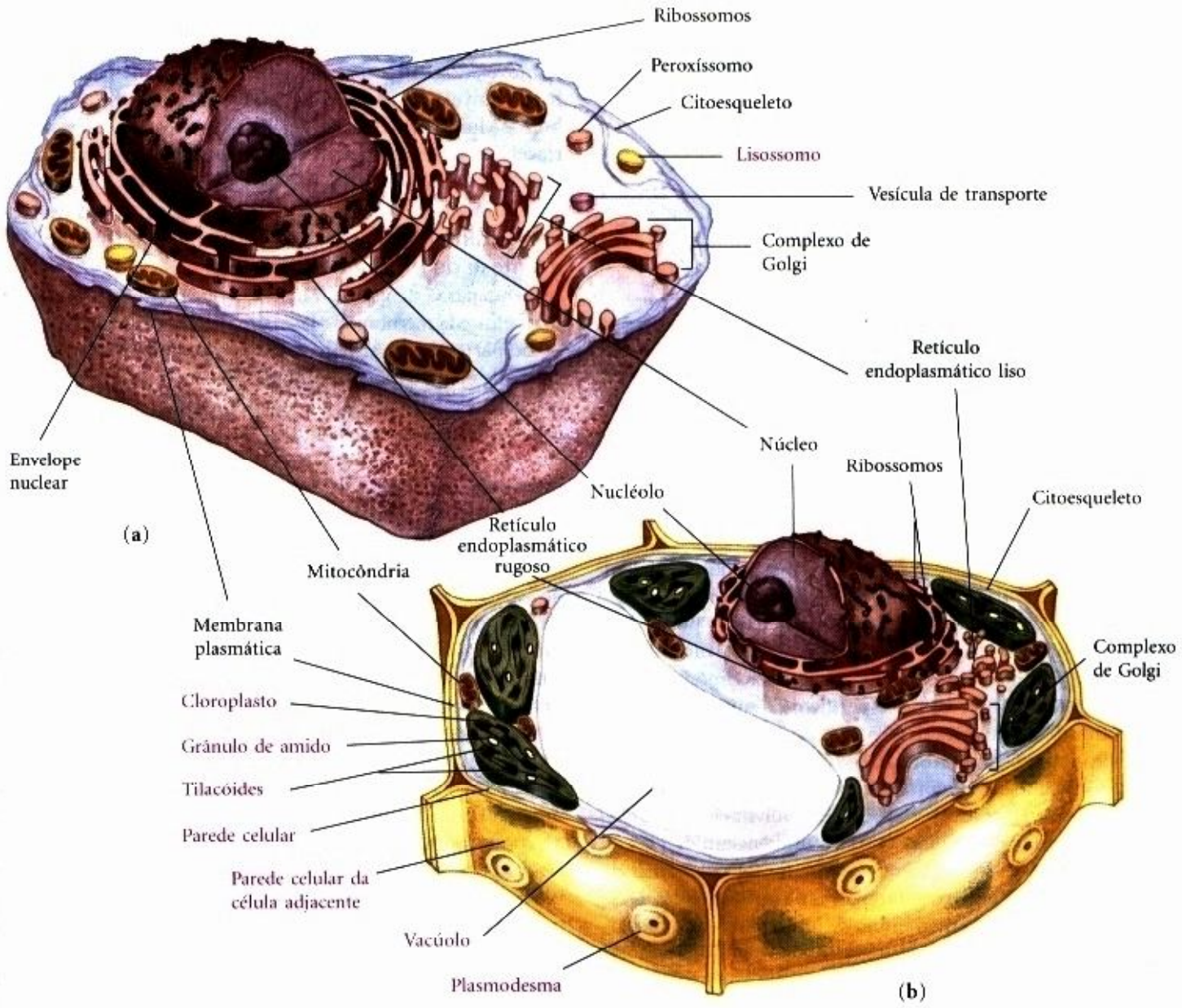


Figura 2-7 – Ilustração esquemática dos dois tipos de células eucarióticas: uma célula animal representativa (**a**) e uma célula de planta representativa (**b**). As células de plantas são usualmente de 10 a 100μm de diâmetro, maior do que as células animais, as quais tipicamente variam de 5 a 30μm. As estruturas marcadas em vermelho são específicas para células animais ou de plantas.

das as células contêm uma variedade de **transportadores**, proteínas que atravessam a espessura da membrana e transportam nutrientes para dentro e produtos residuais para fora da célula. As células possuem também proteínas de superfície da membrana (**receptores de sinais**) que apresentam sítios de ligação altamente específicos para moléculas sinalizadoras extracelulares (ligantes dos receptores). Quando um ligante externo se une ao seu receptor específico, a proteína receptora traduz o sinal transportado por esse ligante em uma mensagem intracelular (Fig. 2-8). Por exemplo, alguns receptores de superfície estão associados com **canais iônicos** que se abrem quando o receptor está ocupado, permitindo a entrada de íons específicos; outros ativam ou inibem enzimas celulares na superfície da membrana interna. Qualquer que seja o modo de **transdução de sinal**, os receptores da superfície atuam caracteristicamente como amplificadores de sinal — uma única molécula ligante unida a um único receptor pode provocar o fluxo de milhares de íons através de um canal aberto, ou a síntese de milhares de moléculas de um mensageiro intracelular por uma enzima ativada.

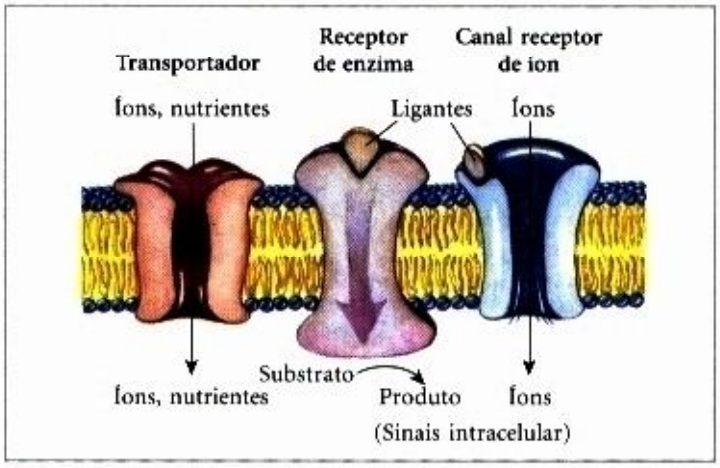


Figura 2-8 – Proteínas na membrana plasmática funcionam como transportadores, receptores de sinais e canais iônicos. Transportadores carregam substâncias para o interior e o exterior da célula; alguns transportadores usam energia para bombear íons e compostos contra um gradiente de concentração. Sinais extracelulares são amplificados pelos receptores: a ligação de uma única molécula ligante no receptor de superfície propicia a formação de muitas moléculas de um mensageiro intracelular, ou o fluxo de muitos íons através de um canal aberto.

Alguns receptores de superfície reconhecem ligantes de baixo peso molecular e outros reconhecem macromoléculas. Por exemplo, a ligação da acetilcolina (M_r 146) ao seu receptor desencadeia uma cascata de eventos celulares que estão por trás da transmissão de sinais para a contração muscular. Proteínas sangüíneas (M_r > 20.000) que transportam lipídios (lipoproteínas) são reconhecidas por receptores específicos da superfície celular e então transportadas para dentro das células. Antígenos (proteínas, vírus ou bactérias reconhecidos pelo sistema imune como estranhos) ligam-se a receptores específicos e desencadeiam a produção de anticorpos. Durante o desenvolvimento de organismos multicelulares, células vizinhas influenciam as vias de desenvolvimento da outra, como se fossem moléculas-sinal de um tipo celular reagindo com receptores de outras células. Dessa forma, a superfície da membrana de uma célula é um mosaico complexo de diferentes espécies de "antenas moleculares" altamente específicas, por meio das quais as células recebem, amplificam e reagem a sinais externos.

A maioria das células das plantas superiores possui uma **parede celular** do lado de fora da membrana plasmática (veja Fig. 2-7b) que funciona como uma cobertura protetora rígida. A parede celular composta de celulose e outros polímeros de carboidratos é espessa, mas porosa. Ela permite que a água e as moléculas pequenas passem facilmente, entretanto o inchaço da célula devido ao acúmulo de água é contido pela rigidez da parede.

A endocitose e a exocitose realizam fluxo através da membrana plasmática

Endocitose é um mecanismo para o transporte de componentes do meio circundante para o interior do citoplasma. Nesse processo (Fig. 2-9), uma região da membrana plasmática se invagina, englobando um pequeno volume do fluido extracelular dentro de um broto que se estreita e entra na célula pela fissão da membrana. A pequena vesícula resultante (**endossomo**) pode-se mover dentro do interior da célula, entregando o seu conteúdo para uma outra organela limitada por uma membrana única (um lisossomo, por exemplo, veja pág. 26), pela fusão das duas membranas. O endossomo, dessa forma, funciona como uma extensão intracelular da membrana plasmática, permitindo efetivamente o contato íntimo entre componentes do meio extracelular e regiões do citoplasma, que não poderiam ser atingidas pela difusão simples. A **fagocitose** é um caso especial de endocitose, em que o material transportado para dentro da célula (dentro de um fagossomo) é uma partícula como um fragmento celular ou mesmo uma outra célula pequena. O inverso da endocitose é a **exocitose** (Fig. 2-9), na qual uma vesícula no citoplasma se move para a superfície interna da membrana plasmática e se funde com ela, liberando o conteúdo vesicular para fora da membrana. Muitas proteínas destinadas à secreção para o espaço extracelular são empacotadas para o interior de vesículas, chamadas de grânulos de secreção, e são liberadas pela exocitose.

O retículo endoplasmático organiza a síntese de proteínas e lipídios

As pequenas vesículas de transporte que se movem para dentro e para fora da membrana plasmática na endocitose e na exocitose são partes de um sistema dinâmico de membranas intracelulares que inclui o retículo endoplasmático, o complexo de Golgi, o envelope nuclear e uma variedade de vesículas pequenas como os lisossomos e os peroxissomos (Fig. 2-9). Embora geralmente apresentadas como elementos estáticos e distintos, essas estruturas estão de fato em fluxo constante, com vesículas continuamente brotando de uma estrutura, movendo-se através da célula e fundindo-se com estruturas membranosas em outros lugares.

O **retículo endoplasmático** (RE) é uma rede tridimensional de espaços envoltos por membrana altamente enrolada, que se estende por todo o citoplasma e envolve um compartimento subcelular (a luz do retículo endoplasmático) separado do citoplasma. Muitas das ramificações planas (cisternas) desse compartimento são contínuas entre si e com o envelope nuclear. Nas células especializadas na secreção de proteínas para o espaço extracelular, como as células pancreáticas que secretam o hormônio insulina, o retículo endoplasmático é particularmente proeminente. Os ribossomos que sintetizam as proteínas destinadas à exportação se ligam à superfície externa (citoplasmática) do retículo endoplasmático, e as proteínas secretadas passam através da membrana para a luz, assim que são sintetizadas. Enzimas digestivas seqüestradas dentro dos lisossomos ou proteínas destinadas para a inserção nas membranas plasmáticas ou nucleares são também sintetizadas nos ribossomos ligados ao retículo endoplasmático. Diferentemente, proteínas que devam permanecer e funcionar dentro do citosol são sintetizadas nos ribossomos citoplasmáticos não associados com o retículo endoplasmático.

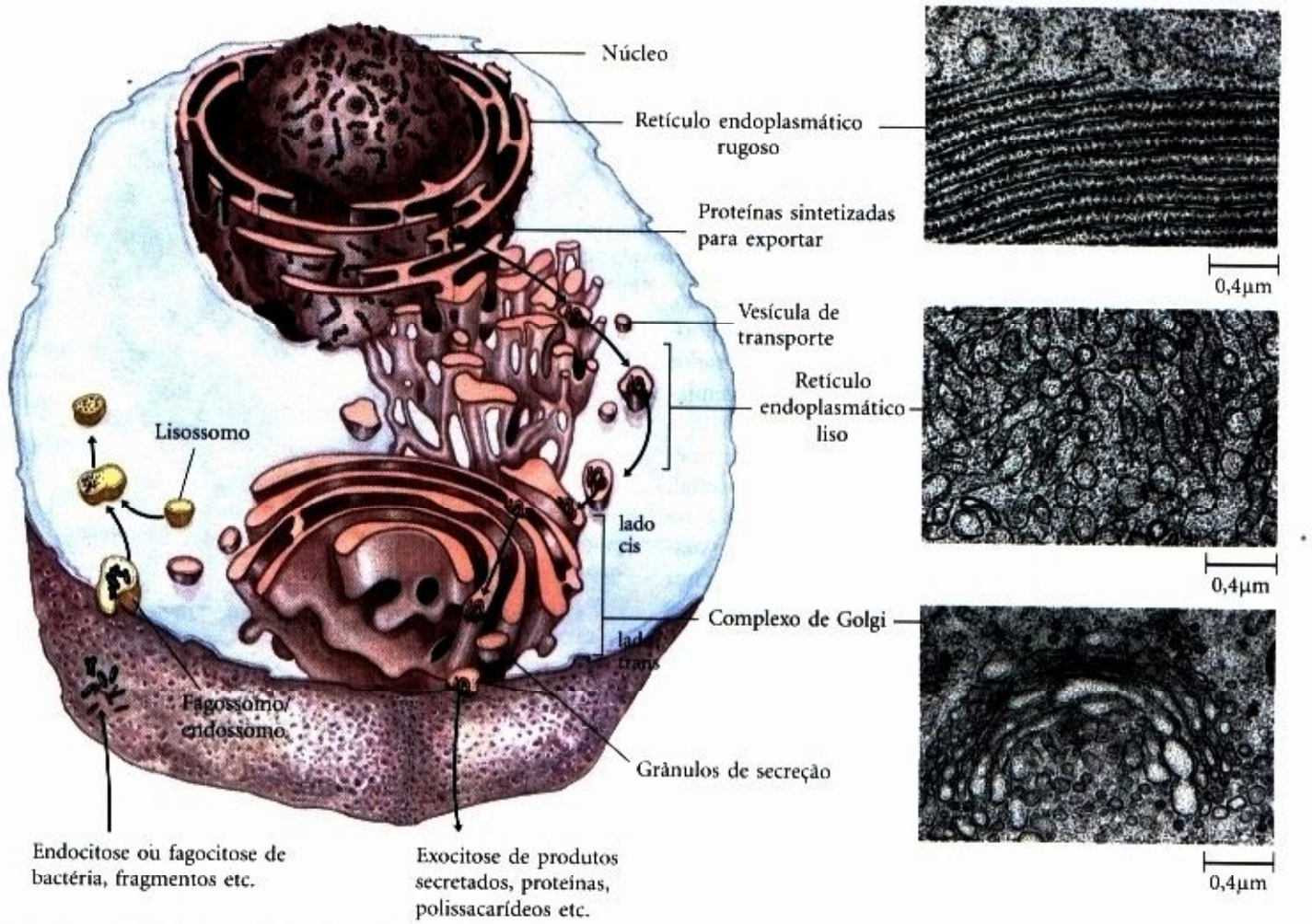


Figura 2-9 – O sistema das endomembranas. Esse sistema inclui o envelope nuclear, o retículo endoplasmático, o complexo de Golgi e vários tipos de vesículas pequenas. Esse sistema envolve um compartimento (luz) distinto do citosol. Os conteúdos da luz movem-se de uma região do sistema de endomembranas para outra, como pequenas vesículas de transporte que brotam de um componente e se fundem a outro. Eletromicrografias de grande aumento de uma célula seccionada mostram o retículo endoplasmático rugoso, salpicado com ribossomos, o retículo endoplasmático liso e o complexo de Golgi. (O tamanho do complexo de Golgi está exagerado no diagrama para maior clareza.) O sistema das endomembranas é dinâmico; proteínas recém-sintetizadas movem-se para a luz do retículo endoplasmático rugoso e depois para o retículo endoplasmático liso e, então, para o complexo de Golgi, por meio de vesículas de transporte. A porção cis do complexo de Golgi faceia o núcleo; a porção trans é a que está mais próxima da membrana plasmática. No complexo de Golgi, "endereços" moleculares são adicionados às proteínas específicas para direcioná-las para a superfície celular, para os lisossomos ou para as vesículas secretoras. Os conteúdos das vesículas secretoras são liberados pela célula por exocitose. A endocitose e a fagocitose trazem materiais extracelulares para dentro da célula. A fusão dos endossomos (ou fagossomos) com os lisossomos, que são repletos de enzimas digestivas, leva à degradação dos materiais extracelulares.

A ligação de milhares de ribossomos (geralmente nas regiões das grandes cisternas) fornece ao **retículo endoplasmático rugoso** sua aparência granular (Fig. 2-9) e também o seu nome. Em outras regiões da célula, o retículo endoplasmático está livre de ribossomos. Esse **retículo endoplasmático liso**, fisicamente contínuo com o retículo endoplasmático rugoso, é o sítio da biossíntese dos lipídios e de uma variedade de outros processos importantes, incluindo o metabolismo de certas drogas e compostos tóxicos. O retículo endoplasmático liso é geralmente tubular, diferentemente das longas cisternas planas típicas do retículo endoplasmático rugoso. Em alguns tecidos (músculo esquelético, por exemplo), o retículo endoplasmático é especializado no armazenamento e na rápida liberação de íons cálcio. O Ca^{2+} liberado é o desencadeante de muitos eventos celulares, incluindo a contração muscular.

O complexo de Golgi processa e distribui as proteínas

Quase todas as células eucarióticas possuem **complexos de Golgi**, sistema de cavidades membranosas ou cisternas, arranjadas como feixes planos (Fig. 2-9). Nomeado após a sua descoberta por Camillo Golgi, o complexo de Golgi é estrutural e funcionalmente assimétrico. O lado cis faceia o retículo endoplasmático rugoso (e o núcleo) e o lado trans faceia a membrana plasmática; entre estes estão os elementos mediais. As proteínas, durante sua síntese nos ribossomos, ligam-se ao retículo endoplasmático rugoso e são inseridas no interior (luz) das cisternas do retículo endoplasmático. Pequenas vesículas de membrana contendo as proteínas recentemente sintetizadas brotam a partir do RE e movem-se para o complexo de Golgi, fundindo-se com o lado cis. Quando as proteínas passam através do complexo de Golgi para o lado trans, enzimas no complexo modificam as moléculas protéicas pela adição de sulfato, carboidrato ou porções lipídicas para as cadeias laterais de certos aminoácidos. Uma das funções dessa modificação de uma proteína recém-sintetizada é "endereçá-la" à sua destinação própria, assim que ela deixa o complexo de Golgi em uma vesícula de transporte que brota do lado trans. Certas proteínas são envoltas em grânulos secretórios, eventualmente para serem liberadas da célula por exocitose. Outras são destinadas a organelas intracelulares como os lisossomos, ou para a incorporação na membrana plasmática durante o crescimento celular.

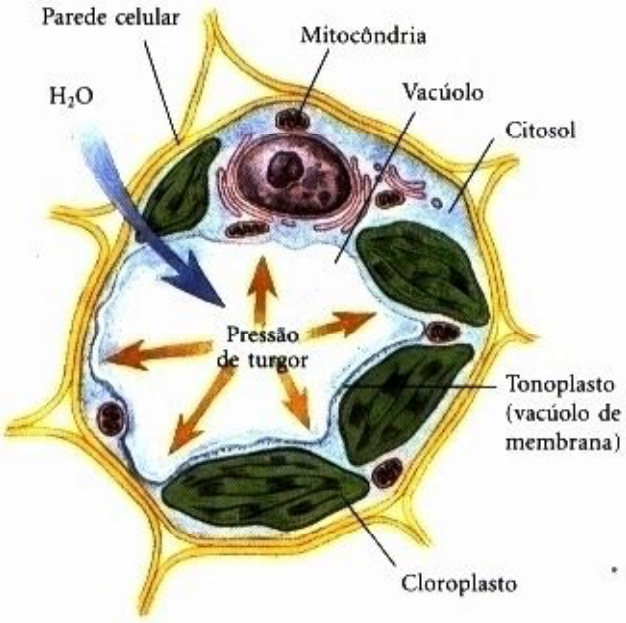
Os lisossomos são os locais das reações degradativas

Lisossomos, encontrados somente em células animais, são vesículas esféricas envoltas por uma simples membrana bilaminada (Fig. 2-9). Eles têm usualmente cerca de 1μm de diâmetro. Os lisossomos contêm enzimas capazes de digerir proteínas, polissacarídeos, ácidos nucléicos e lipídios. Eles funcionam como centros celulares de reciclagem fragmentando moléculas complexas trazidas para a célula por endocitose. Esses materiais entram seletivamente nos lisossomos pela fusão da membrana lisossomal com endossomos, fagossomos ou organelas defeituosas e são, então, degradados aos seus componentes mais simples (aminoácidos, monossacarídeos, ácidos graxos etc.) que são liberados no citosol para serem reciclados em novos componentes celulares ou catabolizados.

As enzimas degradativas dentro dos lisossomos seriam perigosas se não fossem confinadas pela membrana lisossomal: seriam livres para agir em todos os componentes celulares. Uma segunda linha de defesa contra a destruição indesejável de macromoléculas citosólicas pelas enzimas lisossomais é a diferença de pH entre o lisossomo e o citosol, mantida pela ação de uma bomba de prótons impulsionada por ATP na membrana lisossomal. O compartimento lisossomal é mais ácido ($pH \leq 5$) do que o citoplasma ($pH \approx 7$), e as enzimas lisossomais são praticamente inativas no pH elevado do citosol.

Os vacúolos das células de plantas desempenham várias funções importantes

As células das plantas não possuem lisossomos, embora seus vacúolos desempenhem reações degradativas semelhantes, bem como outras funções não encontradas nas células animais. As células de plantas em crescimento contêm vários vacúolos pequenos, vesículas envoltas por uma bicamada de membrana única, que se fundem e se tornam um grande vacúolo central (Fig. 2-10; veja também Fig. 2-7b). O vacúolo pode representar cerca de 90% do volume total da célula madura, pressionando o citoplasma a tornar-se uma fina camada entre o vacúolo e a membrana plasmática. A membrana envolvendo o vacúolo, chamada de **tonoplasto**, regula a entrada de íons, metabólitos e estruturas celulares destinadas à degradação, e o líquido dentro do vacúolo contém enzimas digestivas que degradam e reciclam os componentes macromoleculares. Desde que no lisossomo, o pH dentro do vacúolo é geralmente inferior ao pH do vizinho citosol. Em algumas células de plantas, o vacúolo contém altas concentrações de pigmentos (antocianinas) responsáveis pela coloração púrpura e vermelha das folhas e frutos. Em adição ao seu papel de estoque e degradação de componentes celulares, o vacúolo também fornece suporte físico para a célula da planta. Devido à concentração de solutos (sais, íons, produtos degradados) ser maior no vacúolo do que no citosol, a água passa osmoticamente para o interior do vacúolo, no equilíbrio, uma **pressão de turgor** sobre o citoplasma e a parede celular estabiliza o tecido da planta (Fig. 2-10).



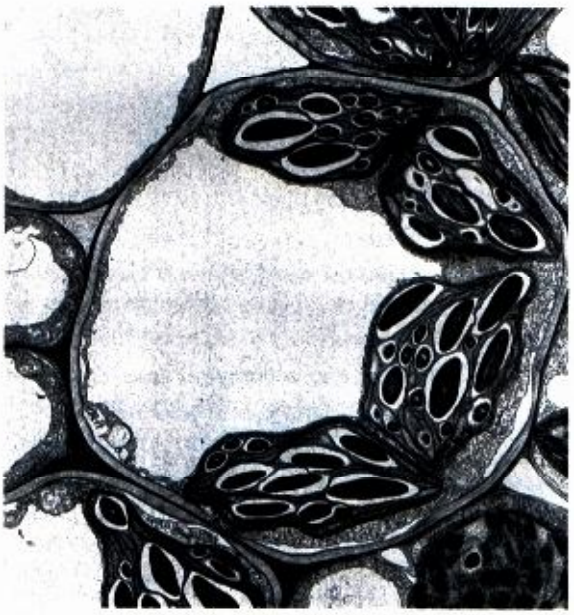


Figura 2-10 – O vacúolo de uma célula de planta contém altas concentrações de Ca^{2+} e uma variedade de compostos de armazenamento e produtos residuais. A água entra no vacúolo aumentando o volume vacuolar e pressionando o citoplasma contra a membrana plasmática, criando a pressão de turgor. A rigidez da parede celular previne a expansão e a ruptura da membrana plasmática.

Os peroxissomos destroem os peróxidos de hidrogênio e os glioxissomos convertem gorduras em carboidratos

Algumas das reações oxidativas na degradação dos aminoácidos e gorduras produzem radicais livres e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), espécies químicas muito reativas que podem lesar a maquinaria celular. Para proteger a célula desses subprodutos destrutivos, tais reações são segregadas dentro de pequenas vesículas, envoltas por membrana, chamadas de **peroxissomos**. O peróxido de hidrogênio é degradado pela catalase, uma enzima presente em altas concentrações nos peroxissomos, que catalisa a reação:

$$2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$$

Glioxissomos são peroxissomos especializados encontrados em certas células de plantas. Eles contêm altas concentrações de enzimas do **ciclo do glioxilato**, uma via metabólica exclusiva das plantas que permite a conversão de gorduras armazenadas em carboidratos durante a germinação das sementes. Os lisossomos, os peroxissomos e os glioxissomos são algumas vezes relatados coletivamente como **microcorpos**.

O núcleo contém o genoma

O núcleo eucariótico é muito complexo tanto na sua estrutura quanto na sua atividade biológica, quando comparado com o nucleóide relativamente simples dos procariotos. O núcleo contém quase todo o DNA da célula, podendo ser milhares de vezes

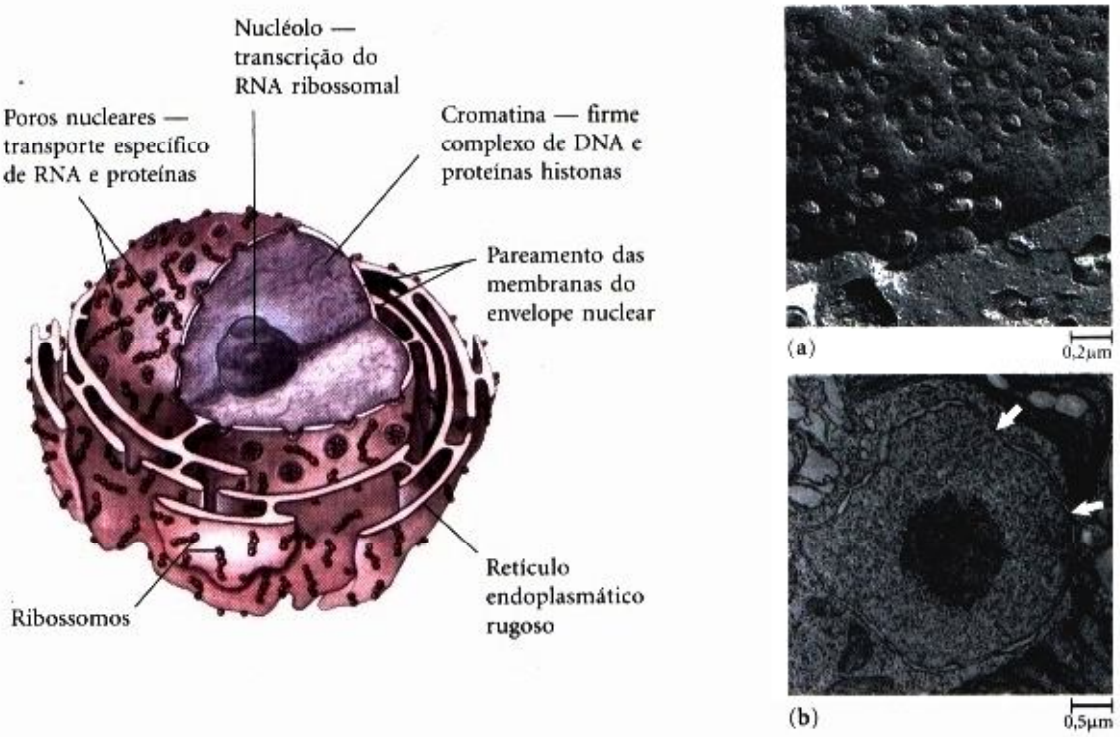


Figura 2-11 – O núcleo e o envelope nuclear. (**a**) Eletromicrografia de varredura da superfície do envelope nuclear, mostrando numerosos poros nucleares. (**b**) Eletromicrografia do núcleo da alga *Chlamydomonas*. O corpo escuro no centro do núcleo é o nucléolo e o material granular que preenche o restante do núcleo é a cromatina. Dois poros nucleares perfurando o par de membranas do envelope nuclear são mostrados por setas.

maior que o presente numa célula bacteriana; uma pequena quantidade de DNA está também presente nas mitocôndrias e cloroplastos. O núcleo é envolto por um **envelope nuclear**, composto de duas bicamadas de membranas separadas por um espaço estreito e contínuo com o retículo endoplasmático rugoso (Fig. 2-11; veja também Fig. 2-9). A intervalos, as membranas nucleares interna e externa são estreitadas em volta de aberturas (**poros nucleares**), que possuem um diâmetro de cerca de 90nm. Associadas aos poros estão estruturas protéicas chamadas de complexos do poro nuclear, transportadores específicos que permitem apenas certas macromoléculas passarem entre o citoplasma e a fase aquosa do núcleo (o **nucleoplasma**). O tráfico para o núcleo através do complexo do poro nuclear inclui enzimas e outras proteínas sintetizadas no citoplasma e requeridas no nucleoplasma para a replicação do DNA e o reparo, transcrição e processamento do RNA. Passando através dos poros nucleares estão os precursores de RNA mensageiros, associados a proteínas, os quais serão traduzidos nos ribossomos, no citoplasma.

O núcleo na interfase celular (não dividindo) é preenchido com um material difuso chamado de **cromatina**, assim chamada devido aos microscopistas pioneiros encontrarem que ela brilhava com certos corantes. A cromatina consiste de DNA e proteínas mantidas ligadas firmemente e é a substância dos cromossomos os quais não condensam e se tornam individualmente visíveis até que a célula se torne apta para a divisão. O **nucléolo** é uma região específica do núcleo onde o DNA contém muitas cópias dos genes codificando para RNA ribossomal. Para produzir grande número de ribossomos necessários para a célula, esses genes estão continuamente transcrevendo para RNA. O nucléolo apresenta-se denso à microscopia eletrônica (Fig. 2-11b) devido ao seu alto conteúdo de RNA. O RNA ribossomal produzido no nucléolo entra no citoplasma através dos poros nucleares.

A divisão nuclear (**mitose**) ocorre antes da divisão celular (**citocinese**). A dupla hélice do DNA da cromatina é replicada, então, na primeira fase da mitose, as fibras de cromatina condensam em corpúsculos discretos, os **cromossomos**, cada um consistindo de duas **cromátides** idênticas (Fig. 2-12). As duas cromátides irmãs separam-se, movimentando-se para cada pólo da célula onde se tornam parte do núcleo recentemente formado na célula filha.

Células de cada espécie possuem um número característico de cromossomos com tamanhos e formas específicas. Por exemplo, o protista *Tetrahymena pyriformis* possui 5 pares; o repolho, 9; o homem, 23; e a samambaia *Ophioglossum reticulatum*, cerca de 630! As células que compõem a maior parte de um organismo multicelular, as células somáticas, possuem duas cópias de cada cromossomo, tais células são chamadas de **diplóides** (**2*n***). Gametas (ovo e espermatozóide, por exemplo) produzidos por meiose (Capítulo 25) possuem apenas uma cópia de cada par de cromossomos e são chamados de **haplóides** (***n***). Durante a reprodução sexual, dois gametas haplóides se combinam para regenerar uma célula diplóide, na qual cada par de cromossomo consiste de um cromossomo paterno e um materno.

O DNA da cromatina e dos cromossomos está firmemente ligado a uma família de proteínas carregadas positivamente, as **histonas**, que se associam fortemente com o DNA por interações iônicas com os seus muitos grupos fosfato carregados negativamente. Cerca de metade da massa da cromatina é DNA, e a outra metade, histonas. Quando o DNA se replica antes da divisão celular, grandes quantidades de histonas são também sintetizadas para manter uma proporção de massa 1:1. As histonas e o DNA associam-se em complexos chamados de **nucleossomos**, nos quais a fita de DNA se enrola em volta de um núcleo de moléculas de histonas (Fig. 2-12). O DNA de um único cromossomo humano forma cerca de um milhão de nucleossomos; os nucleossomos associam-se para formar complexos supramole-

Figura 2-12 – Os cromossomos estão visíveis microscopicamente durante a mitose. Aqui está mostrado, em microscopia eletrônica, um dos 46 cromossomos humanos numa célula diplóide (somática). Cada cromossomo mitótico é composto de duas cromátides, cada uma consistindo de fibras de cromatina fortemente dobradas. Cada fibra de cromatina está, por sua vez, formada pelo empacotamento de uma molécula de DNA embrulhada por proteínas histônicas, formando uma série de nucleossomos. (Adaptado de Becker WM & Deamer DW. (1991) *The World of the Cell*, 2nd edn, Fig. 13-20, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Menlo Park, CA.)

culares muito regulares e compactos. As fibras de cromatina resultantes, com cerca de 30nm de diâmetro, condensam-se formando uma série de regiões de alças, que se agregam a regiões de alças adjacentes, formando os cromossomos visíveis durante a divisão celular. Esse DNA fortemente empacotado nos nucleossomos alcança uma condensação notável das moléculas de DNA. O DNA nos cromossomos de uma única célula humana diplóide teria um comprimento total de cerca de 2m se fosse totalmente esticado, entretanto o comprimento combinado de todos os 46 cromossomos é apenas de aproximadamente 200μm.

As mitocôndrias são as estações de força das células eucarióticas aeróbicas

Mitocôndrias são muito evidentes no citoplasma da maioria das células eucarióticas quando vistas por microscopia eletrônica (Fig. 2-13). Essas organelas envoltas por membrana variam de tamanho, embora tipicamente possuam um diâmetro de cerca de 1μm, semelhante ao das células bacterianas. As mitocôndrias também variam amplamente na forma, número e localização, dependendo do tipo celular ou da função do tecido. A maioria das células das plantas e dos animais contém de várias centenas a milhares de mitocôndrias. Geralmente, as células de tecidos metabolicamente mais ativos devotam uma maior proporção do seu volume à mitocôndria.

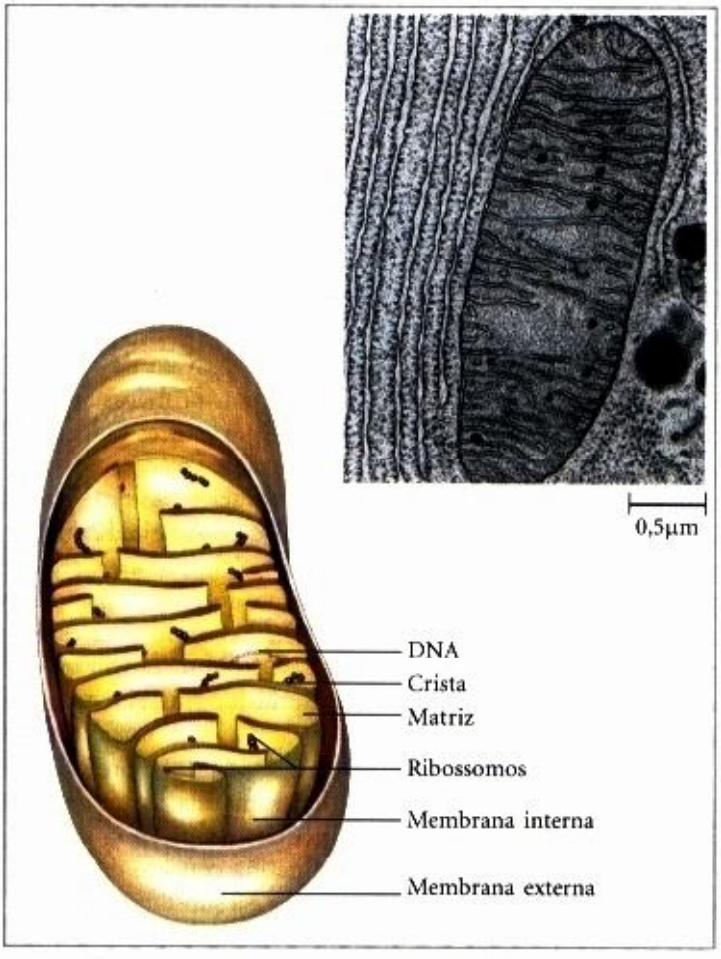


Figura 2-13 – Estrutura de uma mitocôndria. Esta eletromicrografia mostra a extensiva invaginação da membrana interna; as invaginações são chamadas de cristas. (Observe o extenso retículo endoplasmático rugoso que circunda a mitocôndria.)

Cada mitocôndria possui duas membranas. A membrana externa é lisa e envolve completamente a organela. A membrana interna possui invaginações chamadas de **cristas**, que lhe dão uma grande área de superfície. Envolvida pela membrana interna está a **matriz**, uma solução aquosa muito concentrada de muitas enzimas e intermediários químicos envolvidos no metabolismo produtor de energia.

As enzimas mitocondriais catalisam a oxidação dos nutrientes orgânicos pelo oxigênio molecular (O_2), algumas dessas enzimas estão na matriz e outras estão incrustadas na membrana interna. A energia química liberada nas oxidações mitocondriais é usada para gerar ATP, a principal molécula transportadora de energia das células. Nas células aeróbicas, as mitocôndrias são as principais produtoras do ATP, que se difunde a todas as partes da célula e fornece energia para o trabalho celular.

Diferentemente de outras estruturas membranosas como os lisossomos, os complexos de Golgi e o envelope nuclear, as mitocôndrias são produzidas apenas pela divisão de mitocôndrias preexistentes; cada mitocôndria contém seu próprio DNA, RNA e ribossomos. O DNA mitocondrial codifica certas proteínas específicas da membrana interna mitocondrial. Esta e outra evidência apóiam a teoria (mencionada a seguir) de que as mitocôndrias são descendentes das bactérias aeróbicas que viveram endossimbioticamente com as primeiras células eucarióticas.

Os cloroplastos convertem a energia solar em energia química

O citoplasma das plantas contém **plastídios**, organelas especializadas envolvidas por envelopes constituídos de duas membranas. O mais evidente nos plastídios, e caracteristicamente presente nas células fotossintetizantes de plantas e algas, são os **cloroplastos** (Fig. 2-14). Da mesma forma que as mitocôndrias, os cloroplastos podem ser considerados usinas, com a importante diferença de que os cloroplastos usam a energia solar, enquanto as mitocôndrias usam a energia química dos compostos oxidáveis. Moléculas pigmentadas nos cloroplastos absorvem a energia da luz e usam-na para fazer ATP e, no fim, para reduzir o dióxido de carbono para formar carboidratos como o amido e a sacarose. A fotossíntese nos eucariotos e nas cianobactérias produzem O_2 como um subproduto das reações captadoras da luz. As células das plantas fotossintetizantes contêm tanto cloroplastos quanto mitocôndrias. Os cloroplastos produzem ATP somente na presença de luz; a mitocôndria funciona independentemente da luz, oxidando os carboidratos fotossintetizados durante o período de luz solar.

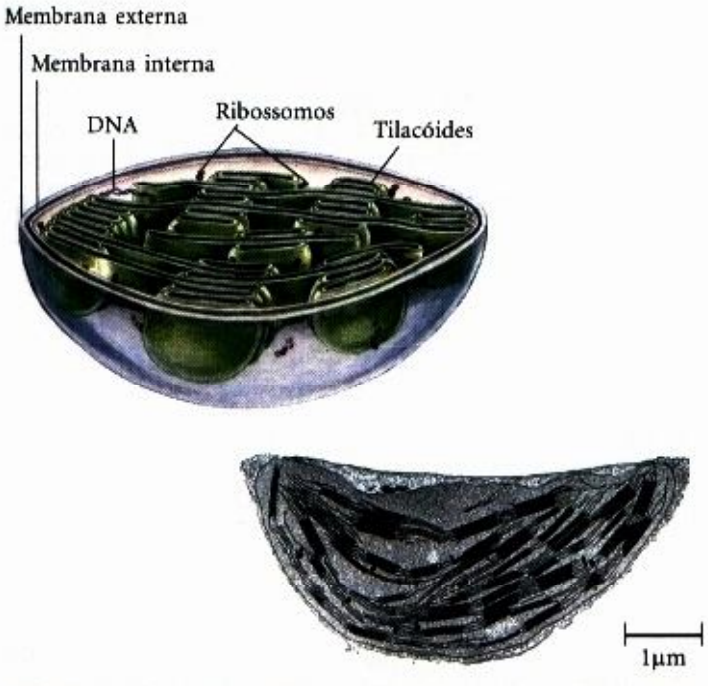


Figura 2-14 – Estrutura de um cloroplasto. Os tilacóides são sacos membranosos achatados que contêm clorofila, o pigmento que capta a luz.

Os cloroplastos são geralmente maiores (diâmetro de 5μm) do que as mitocôndrias e ocorrem em muitas formas diferentes. Pelo fato de os cloroplastos conterem uma alta concentração do **pigmento clorofila**, as células fotossintetizadoras são usualmente verdes, mas a sua cor depende das quantidades relativas de outros pigmentos presentes. Clorofila e outras moléculas pigmentadas, juntas, podem absorver a energia luminosa de grande parte do espectro visível, estão localizadas nas membranas internas dos cloroplastos; estas formam conjunto de cisternas fechadas conhecidas como **tilacóides** (Fig. 2-14). Como as mitocôndrias, os cloroplastos contêm DNA, RNA e ribossomos.

As mitocôndrias e os cloroplastos provavelmente se desenvolveram de bactérias endossimbióticas

Várias linhas independentes de evidência sugerem que as mitocôndrias e os cloroplastos dos eucariotos modernos foram derivados durante a evolução das bactérias aeróbicas e das cianobactérias que se associaram numa relação endossimbiótica nas células eucarióticas primitivas (Fig. 2-15; veja também Fig. 2-6). As mitocôndrias são sempre derivadas de mitocôndrias preexistentes e os cloroplastos de cloroplastos, por fissão simples, da mesma forma que as bactérias se multiplicam por fissão. As seqüências no DNA mitocondrial são notavelmente semelhantes às seqüências encontradas em certas bactérias aeróbicas, e o DNA do cloroplasto mostra seqüências fortemente semelhantes às do DNA de certas cianobactérias. Os ribossomos encontrados na mitocôndria e nos cloroplastos são mais semelhantes no tamanho, na estrutura global e nas seqüências de RNA aos ribossomos das bactérias do que aos encontrados no citoplasma da célula eucariótica. As enzimas que catalisam a síntese de proteínas nessas organelas também se assemelham àquelas das bactérias mais próximas.

Apesar de seu suplemento de DNA e da maquinaria sintetizadora de proteínas, a mitocôndria e os cloroplastos são semiautônomos. Se essas organelas são de fato descendentes endossimbiontes de bactérias primitivas, alguns dos genes presentes na primitiva bactéria de vida livre devem ter sido transferidos para o DNA nuclear do eucarioto hospedeiro durante o curso da evolução. Nem as mitocôndrias nem os cloroplastos contêm todos os genes necessários para especificar todas as suas proteínas. A maioria das proteínas da mitocôndria e do cloroplasto é codificada nos genes nucleares, traduzida nos ribossomos citoplasmáticos e, subseqüentemente, importada para as organelas.

O citoesqueleto estabiliza a forma celular, organiza o citoplasma e produz movimento

Vários tipos de filamentos de proteínas visíveis ao microscópio eletrônico cruzam a célula eucariótica, formando uma rede tridimensional interligada em todo o citoplasma, o **citoesqueleto**, que se estende por todo o citoplasma. Há três tipos gerais de filamentos citoplasmáticos: filamentos de actina, microtúbulos e filamentos intermediários (Fig. 2-16). Eles diferem em largura (de 6 a 22nm), composição e função específica, mas todos aparentemente fornecem estrutura e organização ao citoplasma e à forma da célula. Filamentos de actina e microtúbulos também ajudam a produzir a movimentação de organelas ou de toda a célula.

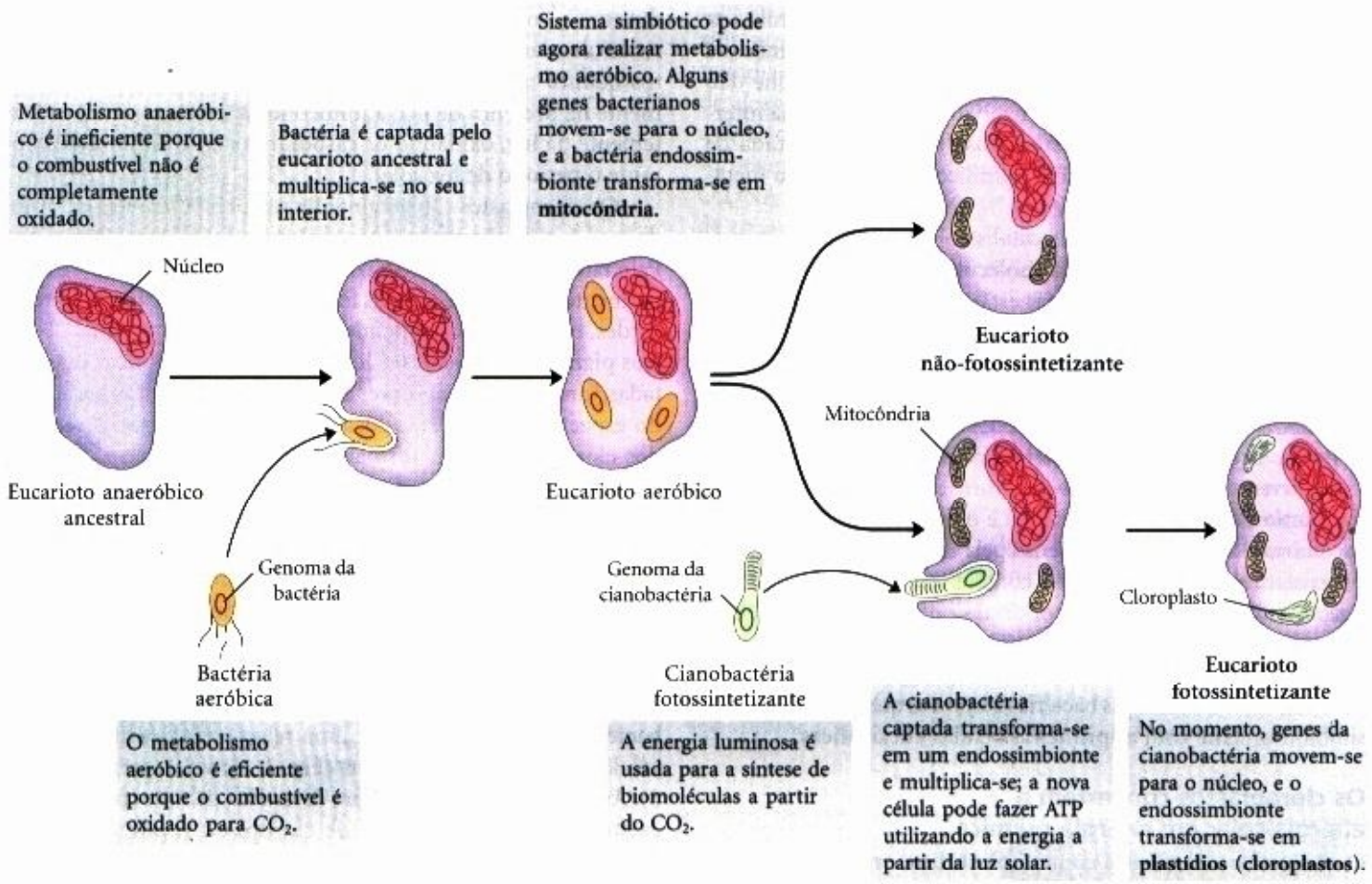
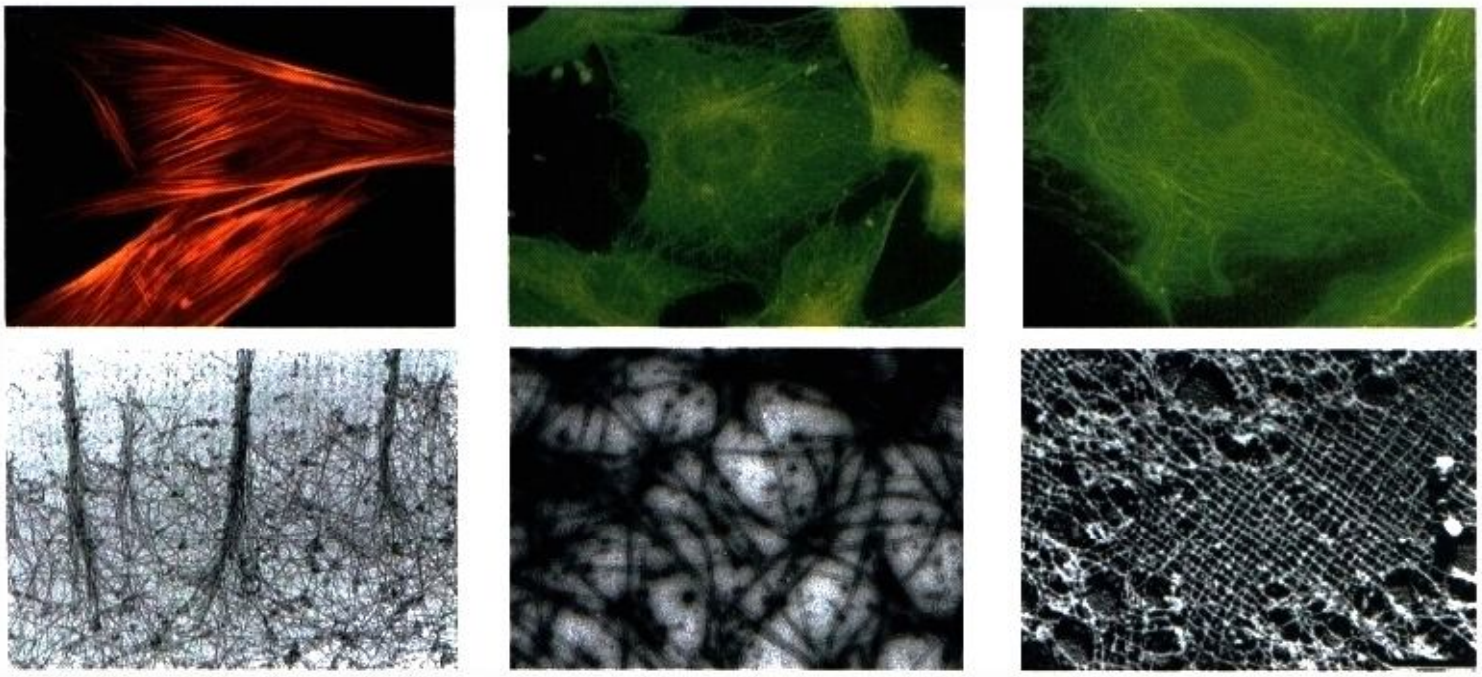


Figura 2-15 – Uma teoria plausível para a origem evolucionária das mitocôndrias e dos cloroplastos. Ela é baseada em muitas semelhanças bioquímicas e genéticas notáveis entre certas bactérias aeróbicas e as mitocôndrias e entre certas cianobactérias e os cloroplastos. Durante a evolução das células eucarióticas, a bactéria tornou-se simbiótica dentro da ancestral anaeróbica. No fim, as bactérias citoplasmáticas tornaram-se as mitocôndrias e os cloroplastos de modernos eucariotos.



Fibras de actina de estresse (a) | Microtúbulos (b) | Filamentos intermediários (c)

Figura 2-16 – Os três tipos de filamentos do citoesqueleto. Os painéis superiores mostram células epiteliais fotografadas depois do tratamento com anticorpos que se ligam e coram especificamente: (**a**) filamentos de actina enfeixados para formar "fibras de estresse"; (**b**) microtúbulos irradiando-se a partir do centro da célula; (**c**) filamentos intermediários que se estendem por toda a parte do citoplasma. Para esses experimentos, os anticorpos que especificamente reconhecem actina, tubulina ou proteínas do filamento intermediário estão covalentemente ligados a um composto fluorescente. Quando a célula é vista ao microscópio de fluorescência, apenas as estruturas coradas são visíveis. Os painéis inferiores mostram cada tipo de filamento como visualizado pela microscopia eletrônica de transmissão (**a**, **b**) ou microscopia eletrônica de varredura (**c**).

Cada um dos componentes do citoesqueleto é composto de subunidades protéicas simples que polimerizam para formar filamentos de espessura uniforme. Esses filamentos não são estruturas permanentes; sofrem constantes desmontagens em suas subunidades monoméricas e remontagens em filamentos. Sua localização nas células não é rigidamente fixa, mas pode alterar dramaticamente com a mitose, a citocinese ou alterações na forma da célula. Todos os tipos de filamentos se associam com outras proteínas que interligam filamentos entre si ou a outros, influenciam a montagem e a desmontagem ou movem organelas citoplasmáticas ao longo dos filamentos.

A proteína actina, virtualmente encontrada em todas as células eucariótica, na presença de ATP associa-se a polímeros não-covalentes linear, helicoidal, de 6 a 7nm de diâmetro, chamados **filamentos de actina** ou **microfilamentos** (Fig. 2-17). As células contêm uma variedade de proteínas as quais se ligam aos monômeros de actina ou filamentos e influenciam sua localização ou estado de agregação. A filamina e a fodrina interligam filamentos de actina entre si, estabilizando a rede e aumentando imensamente a viscosidade do meio onde os filamentos estão suspensos. Grande número de filamentos de actina se liga a proteínas específicas da membrana plasmática, situadas abaixo e mais ou menos paralelas à membrana plasmática, conferindo forma e rigidez à superfície celular (Fig. 2-16a).

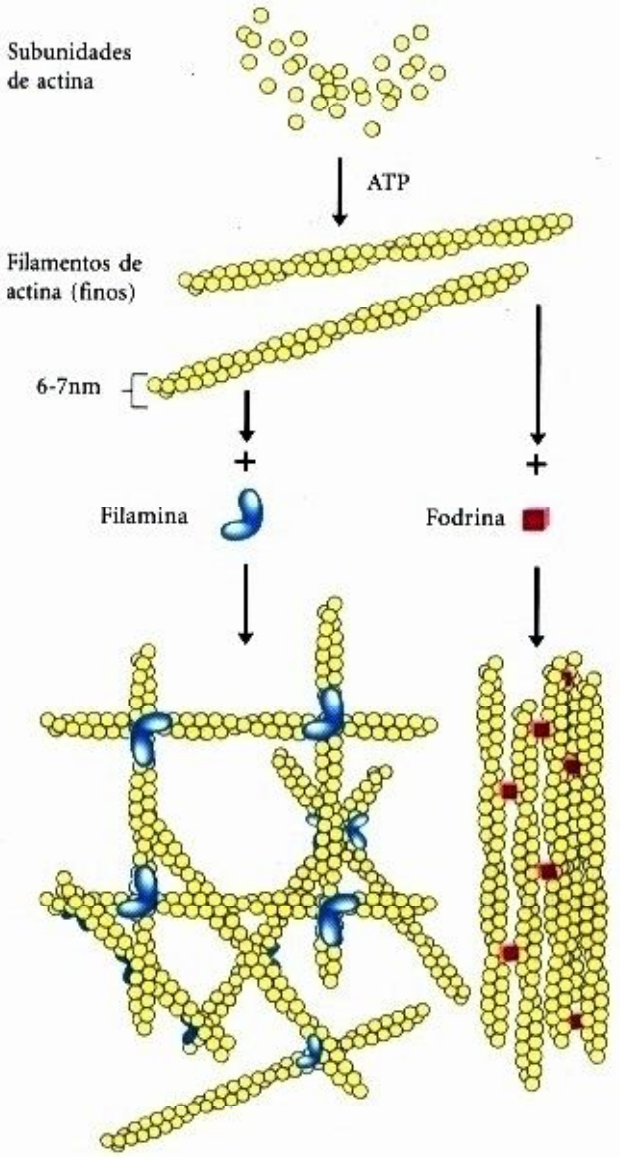


Figura 2-17 – Subunidades individuais de actina polimerizam-se para formar filamentos de actina. A proteína filamina mantém dois microfilamentos quando eles se cruzam em ângulo reto. A proteína fodrina forma ligações cruzadas entre os filamentos para criar agregados ou feixes lado a lado.

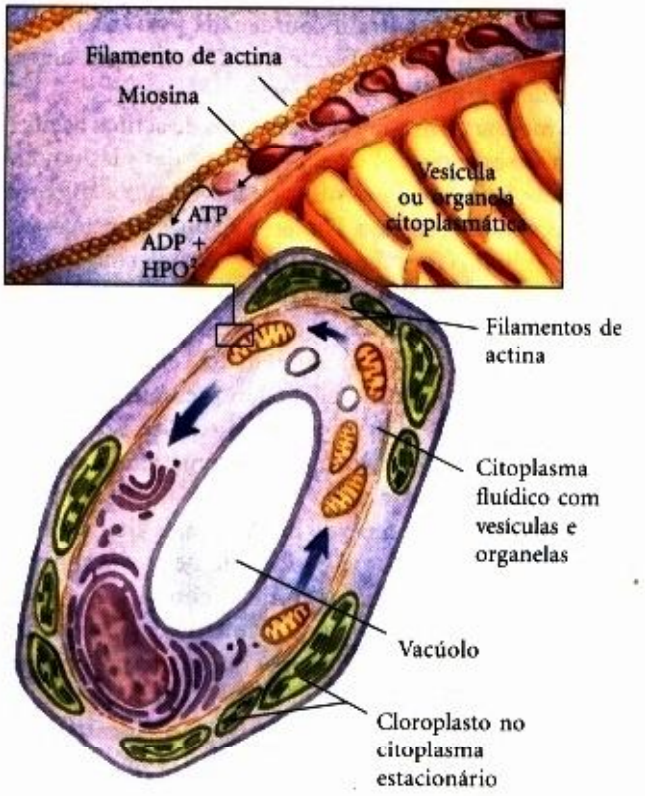


Figura 2-18 – Transporte de organela. Moléculas de miosina movem-se ao longo dos filamentos de actina usando a energia do ATP. A corrente citoplasmática é produzida nas células gigantes da alga verde *Nitella* à medida que a miosina se move ao longo de um trajeto de filamentos de actina. O retículo endoplasmático, a mitocôndria, o núcleo e outras organelas associadas à membrana e às vesículas movem-se uniformemente ao longo da célula, de 50 a 75μm/s. Os cloroplastos estão localizados na camada do citoplasma estacionário que se situa entre os filamentos de actina e a membrana plasmática.

Os filamentos de actina ligam-se a uma família de proteínas chamadas de miosinas, moléculas-motor que convertem a energia química do ATP para trabalho mecânico movendo-se ao longo do filamento de actina em uma direção. Os membros mais simples dessa família, como a miosina I, possuem uma cabeça globular e uma cauda curta. A cabeça liga-se e move-se ao longo de um filamento de actina, impulsionada pela quebra do ATP (Fig. 2-18). A região caudal liga-se na membrana de uma organela citoplasmática, arrastando a organela à medida que a cabeça da miosina se move ao longo do filamento de actina. Esse movimento é facilmente visto nas células vivas, tais como as células gigantes da alga verde *Nitella*, em que organelas e vesículas se movem uniformemente ao longo da célula num processo chamado de corrente citoplasmática (Fig. 2-18). Esse movimento tem o efeito de misturar o conteúdo citoplasmático da enorme célula da alga mais eficientemente do que se ocorresse apenas pela difusão.

Uma forma de miosina maior é encontrada nos sistemas contráteis de uma vasta variedade de organismos, desde o mofo até o homem. Essa miosina também possui uma cabeça globular que se liga e se move ao longo dos filamentos de actina numa reação impulsionada pelo ATP; entretanto, ela tem uma cauda mais longa, que permite a associação de moléculas de miosina lado a lado para formar filamentos espessos (veja Fig. 7-30). Complexos de actina-miosina formam o anel contrátil que divide o citoplasma em dois durante a citocinese em todos os eucariotos. Em animais multicelulares, as células musculares são preenchidas com feixes altamente organizados de filamentos de actina (delgados) e filamentos de miosina (espessos), que pro-

duzem uma força contrátil coordenada pelo deslizamento impulsionado pelo ATP de filamentos de actina por entre os filamentos de miosina estacionários.

Da mesma forma que os filamentos de actina, os **microtúbulos** formam-se espontaneamente a partir das suas unidades monoméricas, entretanto a estrutura polimérica dos microtúbulos é um pouco mais complexa. Dímeros de duas proteínas semelhantes α e β-tubulina formam o microtúbulo oco, com cerca de 22nm de diâmetro. Nas células, a maioria dos microtúbulos sofre polimerização e despolimerização contínuas pela adição das subunidades de tubulina principalmente em uma extremidade e dissociação na outra. Os microtúbulos estão presentes por toda a parte no citoplasma, mas concentrados em regiões específicas em certos instantes. Por exemplo, após as cromátides irmãs se separarem e se moverem para pólos opostos de uma célula em divisão durante a mitose, um feixe de microtúbulos altamente organizados (o fuso mitótico) fornece a estrutura e provavelmente a força motora para a separação dos cromossomos filhos.

Os microtúbulos, como os filamentos de actina, associam-se com uma variedade de proteínas que se movem ao longo deles, formando pontes cruzadas, ou influenciando o estado de polimerização. A cinesina e a dineína citoplasmáticas, proteínas encontradas no citoplasma de muitas células, ligam-se aos microtúbulos e movem-se ao longo deles, usando a energia do ATP para impulsionar sua movimentação (Fig. 2-19). Cada proteína é capaz de se associar a organelas específicas e puxá-las ao longo do microtúbulo por longas distâncias a velocidades de cerca de 1μm/s. O movimento de bater dos cílios e flagelos eucarióticos também envolve a dineína e os microtúbulos.

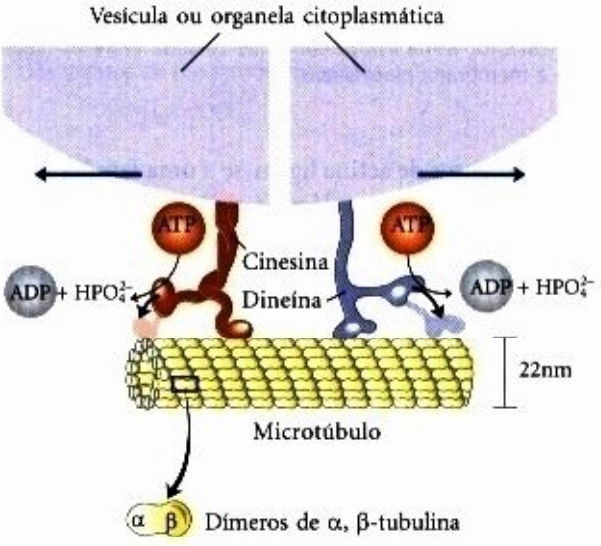


Figura 2-19 – Cinesina e dineína citoplasmática são motores moleculares, impulsionados pelo ATP que podem ligar-se a organelas ou vesículas citoplasmáticas que se movem ao longo dos "trilhos" microtubulares a uma velocidade de aproximadamente 1μm/s.

A contração do músculo esquelético, a ação propulsora dos cílios e flagelos e o transporte intracelular de organelas contam com o mesmo mecanismo fundamental: a quebra do ATP por proteínas como a cinesina, a miosina e a dineína impulsionando o movimento de deslizamento entre os microfilamentos e os microtúbulos.

Filamentos intermediários são uma família de estruturas com dimensões (diâmetro de 8 a 10nm) intermediárias entre os filamentos de actina e os microtúbulos. Vários tipos diferentes de subunidades de proteínas monoméricas formam reversivelmente os filamentos intermediários. A distribuição citoplasmática dessas estruturas é sujeita a alterações reguladas.

Uma função dos filamentos intermediários é fornecer apoio mecânico interno para a célula e para o posicionamento das organelas. Por exemplo, a vimetina é a subunidade monomérica dos filamentos intermediários encontrados nas células endoteliais, que revestem os vasos sangüíneos, e nos adipócitos (células gordurosas). Fibras de vimetina parecem ancorar o núcleo e as gotículas de gordura em localizações celulares específicas. Os filamentos intermediários compostos de queratinas, uma família de proteínas estruturais, são particularmente proeminentes em certas células epidérmicas dos vertebrados e formam uma rede cruzada covalentemente, que persiste mesmo depois que as células morrem. Cabelo, unhas e penas estão entre as estruturas compostas principalmente por queratinas.

O citoplasma é abarrotado, altamente ordenado e dinâmico

A imagem que emerge deste breve resumo é o de uma célula eucariótica com um citoplasma ziguezagueado por uma rede de fibras estruturais, por meio das quais se estende um sistema complexo de compartimentos envoltos por membranas (Fig. 2-7). Tanto os filamentos quanto as organelas são dinâmicos: os filamentos desmontam-se e montam-se em qualquer lugar; as vesículas membranosas brotam de uma organela, movem-se e ligam-se a outras. As organelas movem-se através do citoplasma ao longo de filamentos protéicos, puxados pela cinesina, dineína citoplasmática, miosina e talvez outras proteínas semelhantes. Exocitose e endocitose fornecem vias entre o interior da célula e o meio circundante, permitindo a secreção de proteína e outros componentes produzidos dentro da célula e a captação de componentes extracelulares.

Embora complexa, essa organização do citoplasma está longe do acaso. A movimentação e o posicionamento das organelas e elementos do citoesqueleto estão sob severa regulação e, em certas etapas na vida de uma célula eucariótica, reorganizações finamente orquestradas ocorrem, tais como os eventos da mitose. As interações entre o citoesqueleto e as organelas são não-covalentes, reversíveis e sujeitas à regulação em resposta a vários sinais intra e extracelulares.

O Estudo de Componentes Celulares

As organelas podem ser isoladas por centrifugação

Um grande avanço no estudo bioquímico das células foi o desenvolvimento de métodos para a separação das organelas do citosol e entre si. Em um fracionamento celular típico, as células ou tecidos são rompidos por homogeneização cuidadosa em um meio contendo sacarose (cerca de 0,2M). Esse tratamento rompe a membrana plasmática, mas deixa a maioria das organelas intactas. (A sacarose cria um meio com uma pressão osmótica semelhante àquela das organelas, isso previne a difusão de água para dentro das organelas, o que as faria inchar, romper e extravasar seu conteúdo.)

Organelas, como os núcleos, as mitocôndrias e os lisossomos, diferem em tamanho e, portanto, sedimentam com velocidades diferentes durante a centrifugação. Elas também diferem na gravidade específica e "flutuam" em diferentes níveis em um gradiente de densidade (Fig. 2-20). A centrifugação diferencial leva a um fracionamento grosseiro do conteúdo citoplasmático, que deve ser posteriormente purificado por centrifugação isopícnica ("mesma densidade"). Nesse procedimento, organelas de diferentes densidades de flutuação (resultado das proporções diferentes de lipídios e proteínas em cada tipo de organela) são separadas em um gradiente de densidade. Pela remoção cuida-

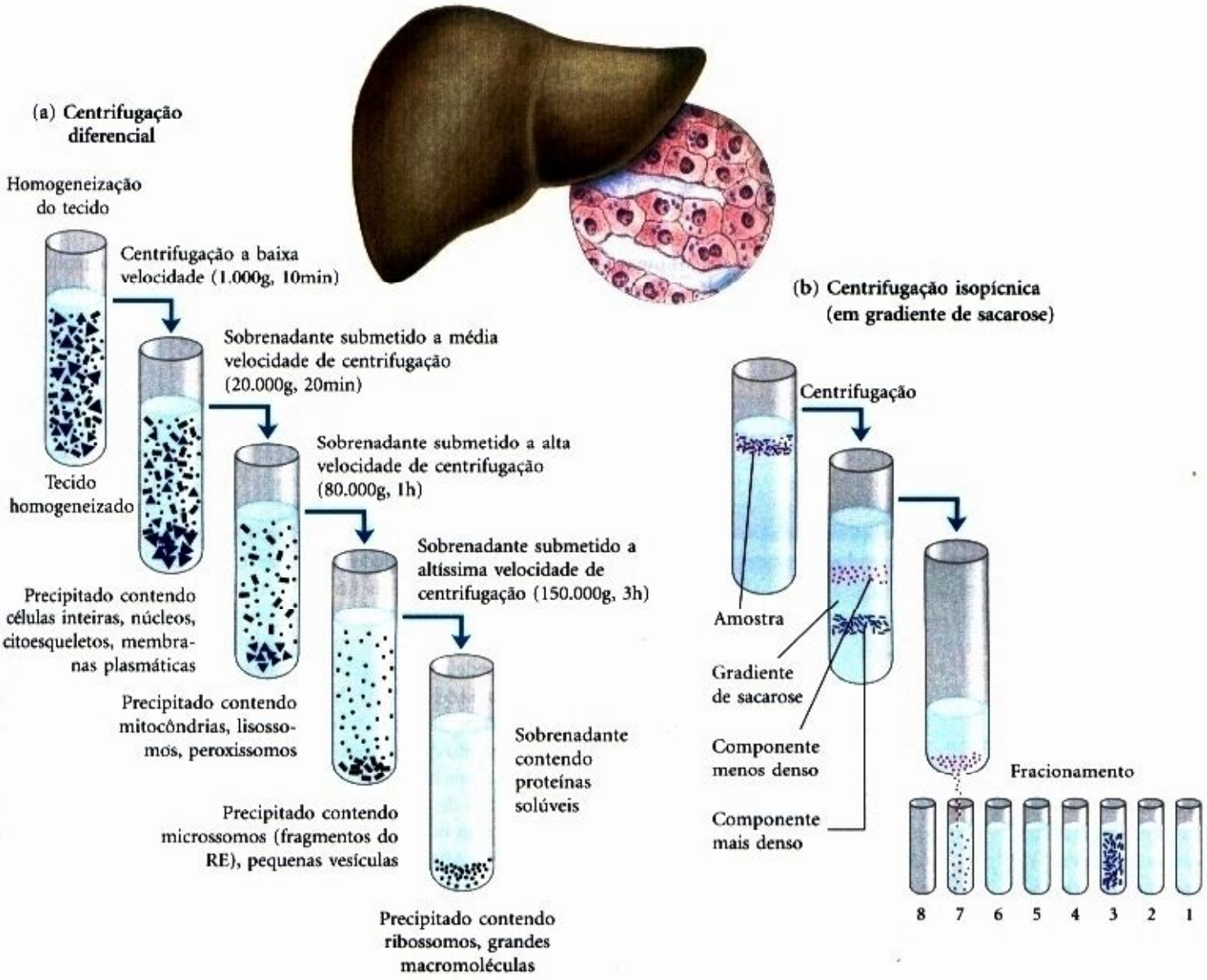


Figura 2-20 – Fracionamento subcelular de um tecido. Um tecido como o fígado é homogeneizado mecanicamente para romper as células e dispersar seu conteúdo em um tampão aquoso. As partículas grandes e pequenas nessa suspensão podem ser separadas por centrifugação em diferentes velocidades (**a**), ou as partículas de diferentes densidades podem ser separadas por centrifugação isopícnica (**b**). Na centrifugação isopícnica, um tubo de centrífuga é preenchido com uma solução, cuja densidade aumenta do topo para a base; alguns solutos, como a sacarose, são dissolvidos em concentrações diferentes para produzir esse gradiente de densidade. Quando a mistura das organelas é colocada no topo do gradiente de densidade e o tubo é centrifugado em alta velocidade, as organelas sedimentam individualmente até que a sua densidade de flutuação se iguale exatamente àquela no gradiente. Cada camada pode ser coletada separadamente.

dosa do material de cada região do gradiente e observação por meio de um microscópio, o bioquímico pode estabelecer a posição de cada organela e obter organelas purificadas para estudos posteriores. Dessa forma, foi estabelecido, por exemplo, que os lisossomos contêm enzimas degradativas, as mitocôndrias contêm enzimas oxidativas e os cloroplastos contêm os pigmentos fotossintetizantes. O isolamento de uma organela enriquecida com uma certa enzima é freqüentemente o primeiro passo na purificação dessa enzima.

Estudos *in vitro* podem oferecer uma visão geral de importantes interações entre as moléculas

Uma das abordagens mais efetivas para entender um processo biológico é estudar moléculas individuais purificadas como enzimas, ácidos nucléicos ou proteínas estruturais. Os componentes purificados são apropriados à caracterização minuciosa *in vitro*, suas propriedades físicas e atividades catalíticas podem ser estudadas sem "interferência" de outras moléculas presentes na célula intacta. Embora essa abordagem tenha sido notavelmente reveladora, sempre deve ser lembrado que o interior de uma célula é bem diferente do interior de um tubo de ensaio. Os componentes "interferentes" eliminados pela purificação podem ser críticos à função ou à regulação biológica da molécula purificada. Estudos *in vitro* de enzimas puras são comumente realizados em concentrações de enzimas muito baixas, em soluções aquosas homogêneas. Na célula, uma enzima está dissolvida ou suspensa num citoplasma gelatinoso com milhares de outras proteínas, algumas das quais se ligam àquela enzima e influenciam sua atividade. Dentro das células, algumas enzimas são parte de complexos multienzimáticos, nos quais os reagentes são canalizados de uma enzima para outra sem nunca entrar na massa do solvente. A difusão é atrapalhada num citoplasma gelatinoso e a composição citosólica varia em diferentes regiões da célula. Em resumo, uma certa molécula pode funcionar diferentemente dentro da célula e *in vitro*. Um dos principais desafios da bioquímica é compreender a influência da organização celular e das associações macromoleculares na função de enzimas individuais — para entender a função *in vivo*, bem como *in vitro*.

Evolução dos Organismos Multicelulares e de Diferenciação Celular

Todos os eucariotos unicelulares modernos — os protistas — contêm as organelas e os mecanismos que descrevemos, indicando que essas organelas e mecanismos devem ter se originado relativamente cedo. Os protistas são extraordinariamente versáteis. O protista ciliado *Paramecium*, por exemplo, move-se rapidamente nas suas vizinhanças aquosas batendo seus cílios; percebe estímulos mecânicos, químicos e térmicos do seu ambiente e responde alterando o seu caminho; encontra, engolfa e digere uma variedade de organismos como alimento e excreta os fragmentos não digeridos; elimina o excesso de água que vasa por sua membrana e encontra e acasala-se com parceiros sexuais. Entretanto, o ser unicelular tem suas desvantagens. O *Paramecium* provavelmente vive numa pequena região da lagoa onde sua vida começou, pelo fato de sua motilidade ser limitada pela pequena capacidade dos seus cílios microscópicos e de sua habilidade em detectar um ambiente melhor a distância ser limitada pelo pequeno alcance do seu aparelho sensorial.

Em alguma etapa posterior da evolução, os organismos unicelulares descobriram a vantagem de se agregar, adquirindo portanto maior motilidade, eficiência ou sucesso reprodutivo do que os seus competidores unicelulares de vida livre. A evolução posterior de tais organismos aglutinados levou às associações permanentes entre células individuais e eventualmente à especialização dentro da colônia — a diferenciação celular.

As vantagens da especialização celular levaram à evolução de organismos mais complexos e altamente diferenciados, nos quais algumas células desempenham funções sensoriais, outras digestivas, fotossintetizantes ou reprodutoras. Muitos organismos multicelulares modernos contêm centenas de diferentes tipos celulares, cada um especializado em alguma função que apóia o organismo inteiro. Mecanismos fundamentais que surgiram anteriormente foram refinados e complementados posteriormente durante a evolução. O mecanismo simples responsável pela movimentação da miosina ao longo dos filamentos de actina no mofo foi conservado e elaborado nas células musculares dos vertebrados. A mesma estrutura básica e o mesmo mecanismo que sustenta a movimentação do bater dos cílios do *Paramecium* e dos flagelos na *Chlamydomonas* são empregados na célula altamente diferenciada dos vertebrados, o espermatozóide. A Figura 2-21 ilustra algumas das especializações celulares encontradas nos organismos multicelulares.

As células individuais de um organismo multicelular permaneceram delimitadas por suas membranas plasmáticas, mas desenvolveram estruturas especializadas de superfície para a fixação e comunicação com outras (Fig. 2-22). Cada tipo de junção intercelular é reforçada por proteínas de membrana ou filamentos do citoesqueleto. Os animais têm três tipos de junções que servem a propósitos diferentes. Nas **junções apertadas** ("tight junctions"), as membranas plasmáticas de células epiteliais adjacentes estão intimamente juntas, sem nenhum fluido extracelular separando-as. As junções apertadas formam um cinturão ao redor da célula, constituindo uma barreira entre o tecido e o ambiente externo. Os **desmossomos** são placas fibrosas que mantêm as células epiteliais juntas; o pequeno espaço extracelular entre elas é preenchido por proteínas fibrosas e aderentes. Os desmossomos mecanicamente fornecem resistência às conexões físicas entre as células, mas não impedem a passagem de material através do espaço extracelular entre as células por eles conectadas. Os **canais juncionais** ("gap junctions") fornecem pequenas aberturas reforçadas entre as células, através das quais correntes elétricas, íons e moléculas pequenas podem passar. Eles servem como canais de comunicação entre as células adjacentes. As plantas superiores possuem os **plasmodesmata** (singular, plasmodesma) os quais formam canais que se assemelham aos canais juncionais, mas estruturalmente são completamente diferentes, em parte por causa da presença da parede celular das plantas. Os plasmodesmata fornecem um caminho através da parede celular e membrana plasmática para a movimentação de metabólitos e até mesmo algumas proteínas pequenas entre as células adjacentes.

Vírus: Parasitas das Células

Os **vírus** são complexos supramoleculares que podem se replicar em células hospedeiras apropriadas. Eles consistem de uma molécula de ácido nucléico (DNA ou RNA), molécula envolvida por uma capa protetora, ou capsídeo, feita de moléculas protéicas e em alguns casos de um envelope membranoso. Os vírus existem em dois estados. Fora das células hospedeiras que os formam, os vírus são simplesmente partículas não vivas chamadas de **vírions**, os quais podem ser cristalizados. Assim que um vírus ou seu componente ácido nucléico entra numa célula hospedeira específica, ele se torna um parasita intracelular. O ácido nucléico viral transporta a mensagem genética especificando a estrutura do vírion intacto. Ele desvia os ribossomos e as enzimas da célula hospedeira das suas funções celulares normais para a construção de muitas novas partículas virais filhas. Em conseqüência, uma progênie de centenas de vírus pode se originar de apenas um vírion que infecta uma célula hospedeira. Em alguns sistemas vírus-hospedeiro, a progênie do vírion escapa através da membrana plasmática da célula hospedeira. Outros vírus produzem a lise celular (quebra da membrana e morte da célula hospedeira) quando são liberados. Muito da patologia associada com as doenças virais resulta da lise da célula hospedeira.

Um tipo de resposta diferente ocorre em algumas infecções virais, nas quais o DNA viral se torna integrado no cromossomo do hospedeiro e é replicado com os genes do próprio hospedeiro. Genes virais integrados podem ter pouco ou nenhum efeito na sobrevivência do hospedeiro, entretanto, em casos raros, eles produzem profundas alterações na aparência e na atividade da célula hospedeira.

Muitas centenas de diferentes vírus são conhecidos (Fig. 2-23), sendo cada um mais ou menos específico para uma célula hospedeira, que pode ser uma célula animal, de planta ou bacteriana. Vírus específicos para bactérias são conhecidos como **bacteriófagos**, ou simplesmente **fagos** (do grego *phagein*, "comer"). Alguns vírus contêm apenas uma espécie de proteína no seu capsídeo — o vírus do mosaico do tabaco, por exemplo, um vírus de planta simples e o primeiro a ser cristalizado. Outros vírus contêm centenas de diferentes espécies de proteínas. Alguns desses vírus grandes e complexos foram cristalizados e minúcias de suas estruturas moleculares são conhecidas. Os vírus diferem enormemente em tamanho. O bacteriófago ϕX174, um dos menores, possui diâmetro de 18nm. O vírus da vaccínia é um dos maiores, seu vírion é quase tão grande quanto uma bactéria pequena. Os vírus também diferem na forma e na complexidade estrutural. O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é de estrutura relativamente simples, mas devastador na sua ação; causa a AIDS destruindo as células centrais do sistema imune dos humanos. A epidemia de Hantavirus no sudoeste dos Estados Unidos em 1993 e do vírus Ebola na África central em 1995 ilustra a extrema patogenicidade de alguns vírus. Ambas as viroses produzem doenças com andamento rápido e alta mortalidade. Outros vírus que são altamente patogênico para o homem causam a poliomielite, influenza, herpes, hepatite, resfriado comum, mononucleose infecciosa, herpes-zóster e certos tipos de câncer.

A Bioquímica tem ganho enormemente com o estudo dos vírus, que tem fornecido informação nova sobre a estrutura do genoma, os mecanismos enzimáticos da síntese dos ácidos nucléicos e de proteínas e a regulação do fluxo da informação genética.

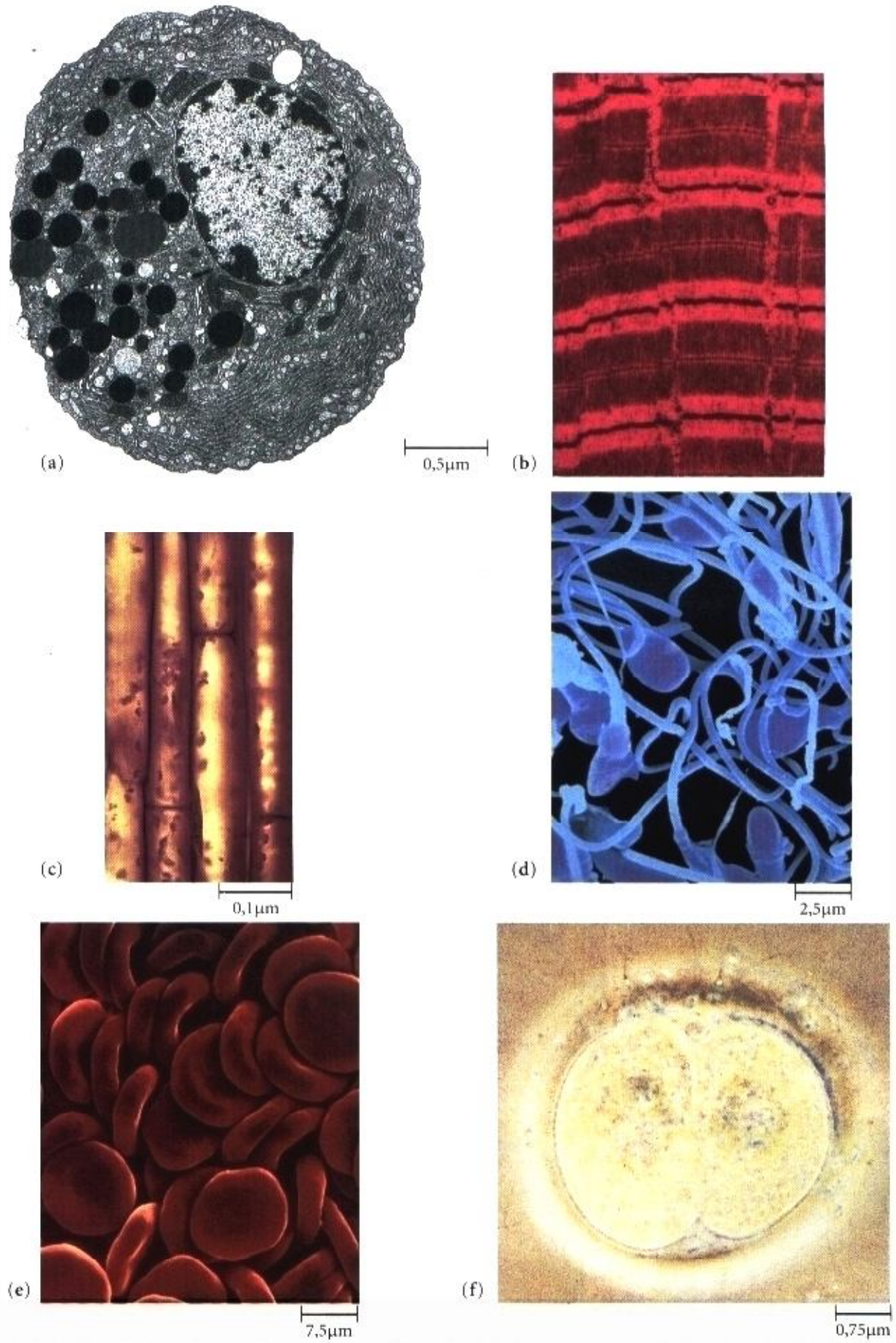


Figura 2-21 – Uma galeria de células estrutural e funcionalmente diferenciadas. (**a**) Células secretórias do pâncreas. Seu extenso retículo endoplasmático é o local da síntese das proteínas secretadas. (**b**) Porção de uma célula de músculo esquelético (cor artificial). Os filamentos altamente organizados de actina e miosina deslizando um ao outro num processo dependente de ATP que produz contração muscular macroscópica. (**c**) Células do colênquima de um caule de planta. Essas células, sem uma rígida parede celular, produzem um suporte flexível para o crescimento do caule. (**d**) Células do espermatozóide humano (cor artificial). O flagelo longo impulsiona o espermatozóide através do trato reprodutivo da fêmea em direção ao óvulo. (**e**) Eritrócitos humano maduros (cor artificial). Essas células não têm núcleo ou sistema de endomembrana; cada célula contém o oxigênio solúvel ligado à hemoglobina, com flexibilidade suficiente para penetrar em capilares de pequeno diâmetro. (**f**) Embrião humano no estágio de duas células. A célula ovo a partir da qual ele foi originado foi empacotada com combustível armazenado e·RNA mensageiro para suportar a rápida síntese protéica que se segue após a fertilização.

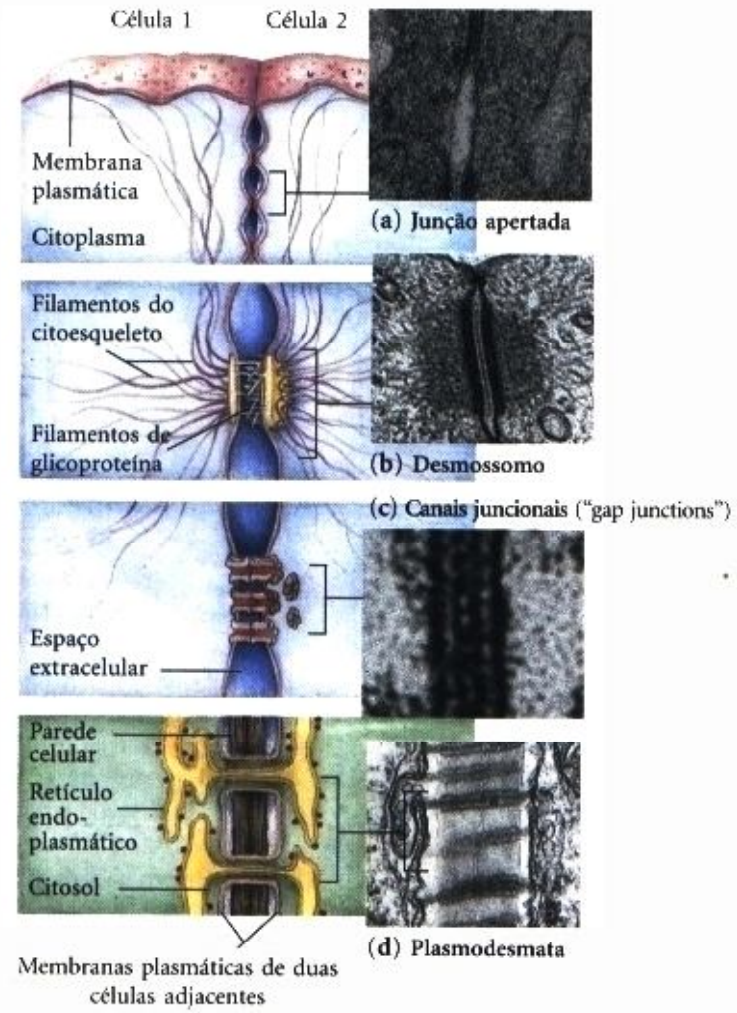


Figura 2-22 – Conexões celulares. As células animais podem ser mantidas por três tipos de junções entre as células. (**a**) Junções apertadas produzem uma selagem entre células epiteliais adjacentes. (**b**) Desmossomos soldam células epiteliais adjacentes e são reforçados por vários elementos do citoesqueleto. (**c**) Canais de junção permitem que íons e correntes elétricas fluam entre células adjacentes. (**d**) Em plantas, plasmodesmata conectam células adjacentes, fornecendo um caminho através da parede celular para a passagem de pequenos metabólitos e proteínas.

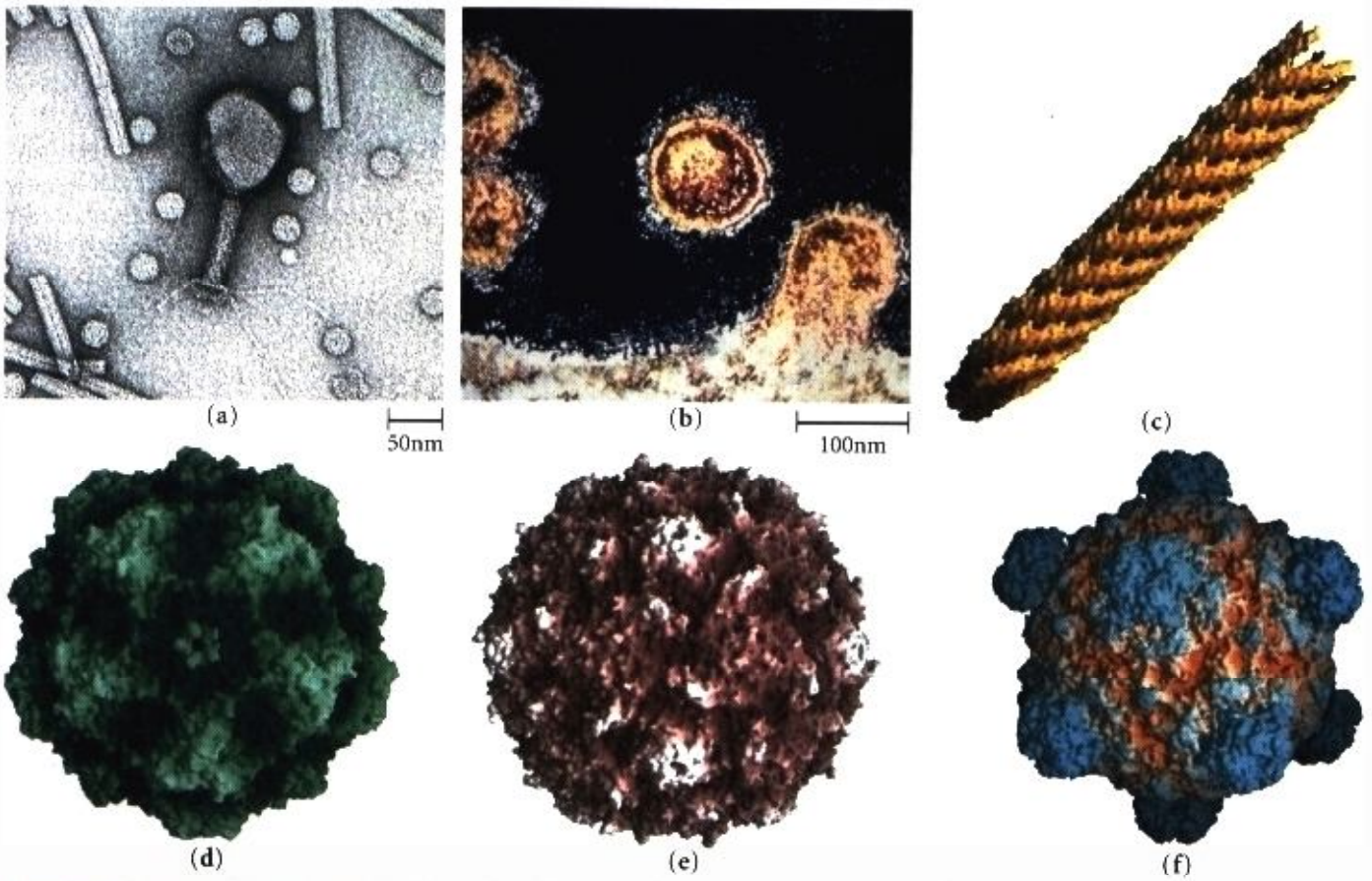


Figura 2-23 – Uma galeria de vírus. (**a**) Micrografia eletrônica mostrando o vírus do mosaico amarelo do nabo (partículas esféricas, pequenas), vírus do mosaico do tabaco (cilindros longos) e bacteriófago T4 (com a forma de um espelho de mão). (**b**) Micrografia eletrônica (cor artificial) mostrando o vírus da imunodeficiência humana (HIV), o agente causador da AIDS, saindo de um linfócito T infectado do sistema imune. (**c**) Modelo molecular da superfície do fago filamentoso fd. (**d**) Modelo molecular da superfície do parvovírus canino, um problema de saúde sério para cães não vacinados. (**e**) Modelo molecular da superfície do poliovírus humano (tipo 2), um picornavírus. A vacinação em larga escala tem quase eliminado o poliovírus como um problema de saúde para o homem. (**f**) Modelo molecular da superfície do bacteriófago ϕX174.

Resumo

As células, unidades estruturais e funcionais dos organismos vivos, são de dimensões microscópicas. Seu pequeno tamanho, combinado com convoluções da sua superfície, produz altas razões entre a superfície e o volume, facilitando a difusão de combustíveis, nutrientes e produtos residuais entre a célula e seus arredores. Todas as células compartilham certas características: DNA contendo a informação genética, ribossomos e uma membrana plasmática que envolve o citoplasma. Nos eucariotos, o material genético é envolto por um envelope nuclear; os procariotos não possuem essa membrana.

A membrana plasmática é uma barreira de permeabilidade, firme e flexível, que contém numerosos transportadores, bem como receptores para uma variedade de sinais extracelulares. O citoplasma de células eucarióticas consiste de citosol e organelas. O citosol é uma solução concentrada de proteínas, RNA, intermediários metabólicos, co-fatores e íons inorgânicos. Os ribossomos são complexos supramoleculares nos quais ocorre a síntese protéica; os ribossomos bacterianos são um pouco menores que aqueles das células eucarióticas, mas são semelhantes na estrutura e na função.

Certos organismos, tecidos e células oferecem vantagens para os estudos bioquímicos. A *E. coli* e a levedura podem ser cultivadas em grandes quantidades, possuem tempo de geração curto e são especialmente apropriadas à manipulação genética. As funções especializadas do fígado, do músculo, do tecido adiposo e dos eritrócitos os tornam atraentes para o estudo de processos específicos.

As primeiras células vivas foram os procariotos e anaeróbicos; eles provavelmente surgiram cerca de 3,5 bilhões de anos atrás, quando a atmosfera era desprovida de oxigênio. Com a passagem do tempo, a evolução biológica conduziu as células capazes de produzir fotossíntese, com o O_2 como subproduto. À medida que o O_2 se acumulava, surgiam células procarióticas capazes de produzirem oxidação aeróbica dos combustíveis. Os dois principais grupos de procariotos — eubactérias e arqueobactérias — divergiram cedo na evolução. O envelope celular de alguns tipos de bactérias incluem camadas fora da membrana plasmática, que fornecem rigidez ou proteção. Algumas bactérias possuem flagelo para a propulsão. O citoplasma das bactérias não contém organelas envoltas por membrana, mas contém ribossomos e grânulos de nutrientes, bem como um nucleóide que contém todo o DNA da célula. Algumas bactérias fotossintetizantes possuem extensas membranas intracelulares que contêm pigmentos captadores da luz.

Cerca de 1,5 bilhão de anos atrás surgiram as células eucarióticas. Elas eram maiores do que as procarióticas e o seu material genético era mais complexo. Essas células iniciais estabeleceram relações simbióticas com os procariotos que viviam no seu citoplasma; as mitocôndrias e os cloroplastos modernos são derivados desses endossimbiontes primitivos. As mitocôndrias e os cloroplastos são organelas intracelulares envoltas por uma dupla membrana. Eles são os principais sítios da síntese do ATP nas células eucarióticas aeróbicas. Os cloroplastos são encontrados apenas nos organismos fotossintetizantes, entretanto as mitocôndrias são ubíquas entre os eucariotos.

As células eucarióticas modernas possuem um sistema complexo de membranas intracelulares. Esse sistema de endomembranas consiste de envelope nuclear, retículos endoplasmáticos liso e rugoso, complexo de Golgi, vesículas de transporte, lisossomos e endossomos. Proteínas sintetizadas nos ribossomos ligados ao endoplasmático rugoso passam para o sistema endomembranoso, percorrendo o complexo de Golgi no seu trajeto para atingir as organelas ou para a superfície celular, nas quais serão secretadas por exocitose. A endocitose traz materiais extracelulares para dentro da célula, onde podem ser digeridos por enzimas digestivas nos lisossomos. Nas plantas, o vacúolo central é o sítio dos processos degradativos, ele também funciona como um depósito de armazenamento de pigmentos e outros produtos metabólicos e mantém o turgor celular.

O material genético nas células eucarióticas está organizado nos cromossomos, complexos altamente organizados de DNA e proteínas histônicas. Antes da divisão celular (citocinese), cada cromossomo é replicado e estes são separados pelo processo da mitose.

O citoesqueleto é uma rede intracelular de filamentos de actina, microtúbulos e filamentos intermediários de vários tipos. O citoesqueleto confere forma à célula, e a reorganização dos filamentos do citoesqueleto resulta nas alterações de forma que acompanham o movimento amebóide e a divisão celular. As organelas intracelulares movem-se ao longo dos filamentos do citoesqueleto, propelidas por proteínas como a cinesina, a dineína citoplasmática e a miosina, usando a energia do ATP. Os bioquímicos usam a centrifugação diferencial e a centrifugação isopícnica para isolar componentes subcelulares para estudo.

Nos organismos multicelulares há uma divisão de trabalho entre os vários tipos de células. As células individuais em animais são unidas entre si mecanicamente por junções apertadas e desmossomos; canais de comunicação são fornecidos pelos canais juncionais (em animais) e pelos plasmodesmata (em plantas). Os vírus são parasitas das células vivas capazes de subverter a maquinaria celular para a sua própria replicação. Eles infectam células bacterianas, plantas e animais e são responsáveis por uma variedade de sérias doenças humanas.

Leitura Adicional

Geral

Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, & Watson JD. (1994) *Molecular Biology of the Cell*, 3rd edn, Garland Publishing, Inc., New York.

Um livro-texto soberbo sobre estrutura e função celular, cobrindo os tópicos considerados neste capítulo e um referencial útil para muitos capítulos seguintes.

Becker WM, Reece JM, & Peonie MF. (1995) *The World of the Cell*, 3rd edn, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Redwood City, CA.

Um excelente livro-texto introdutório de biologia celular.

Lodish H, Baltimore D, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, & Darnell J. (1995) *Molecular Cell Biology*, 3rd edn, Scientific American Books, Inc., New York.

Como o livro de Alberts e co-autores, um texto soberbo, útil para este e outros capítulos.

Margulis L. (1996) Archaeal-eubacterial mergers in the origin of Eukarya: phylogenetic classification of life. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 1071-1076.

Os argumentos para a divisão de todas as criaturas vivas em cinco reinos: Monera, Protista, Animalia, Planta.

Margulis L, Gould SJ, Schwartz KV, & Margulis AR. (1998) *Five Kingdoms: An Illustrated Guide to the Phyla of Life on Earth*, 3rd edn, W.H. Freeman and Company, New York.

Descrição de todos os maiores grupos de organismos, lindamente ilustrados com micrografias eletrônicas e desenhos.

Purves WK, Orians GH, Heller HC, & Sadava D. (1998) *Life: The Science of Biology*, 5th edn, Sinauer Associates, Inc., and W.H. Freeman and Company, New York.

Um livro-texto de biologia geral, bem escrito, bem ilustrado e atualizado.

Estrutura das células, organelas e citoesqueleto

Block SM. (1998) Leading the procession: new insights into kinesin motors. *J. Cell Biol.* **140**, 1281-1284.

Fawcett DW & Jensh RO (eds). (1997) *Bloom and Fawcett: Concise Histology*, Chapman & Hall, London.

Um livro-texto bem ilustrado da estrutura da célula em nível microscópico.

Frontiers in Cell Biology: The Cytoskeleton. (1998) *Science* **279**, 509-533.

Esse volume especial inclui os seguintes artigos:

Hall A. Rho GTPases and the actin cytoskeleton (pp. 509-514); **Fuchs E & Cleveland DW.** A structural scaffolding of intermediate filaments in health and disease (pp. 514-519); **Hirokawa N.** Kinesin and dynein superfamily proteins and the mechanism of organelle transport (pp. 519-526); **Mermall V, Post PL, & Mooseker MS.** Unconventional myosins in cell movement, membrane traffic, and signal transduction (pp. 527-533).

Gelfand V & Bershadsky AD. (1991) Microtubule dynamics: mechanism, regulation, and function. *Annu. Rev. Cell Biol.* **7**, 93-116.

Organization of the Cytoplasm. (1981) *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **46.**

Mais de 90 excelentes artigos sobre microtúbulos, microfilamentos, filamentos intermediários e seus papéis biológicos.

Rothman JE & Orci L. (1996) Budding vesicles in living cells. *Sci. Am.* **274** (March), 70-75.

Uma descrição clara da dinâmica do sistema de endomembranas.

Schroer TA & Sheetz MP. (1991) Functions of microtubule-based motors. *Annu. Rev. Physiol.* **53**, 629-652.

Spudich JA. (1996) Structure-function analysis of the motor domain of myosin. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **12**, 543-573.

Takai Y, Sasaki T, Tanaka K, & Nakanishi H. (1995) Rho as a regulator of the cytoskeleton. *Trends Biochem. Sci.* **20**, 227-231.

Revisão curta da evidência de que a pequena proteína Rho ligante de GTP controla a montagem e a estrutura dos filamentos de actina.

Vale RD & Fletterick RJ. (1997) The design plan of kinesin motors. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **13**, 745-777.

Detalhada revisão da estrutura e de mecanismos dos motores moleculares na superfamília cinesina.

Evolução das células

de Duve C. (1995) The beginnings of life on earth. *Am. Sci.* **83**, 428-437.

Um cenário para a sucessão dos passos químicos que levaram aos primeiros organismos vivos.

de Duve C. (1996) The birth of complex cells. *Sci. Am.* **274** (April), 50-57.

Dyer BD & Obar RA. (1994) *Tracing the History of Eukaryotic Cells: The Enigmatic Smile*, Columbia University Press, New York.

Fenchel T & Finlay BJ. (1994) The evolution of life without oxygen. *Am. Sci.* **82**, 22-29.

Discussão da hipótese endossimbiótica na luz dos modernos organismos endossimbiontes anaeróbicos.

Knoll AH. (1991) End of the proterozoic eon. *Sci. Am.* **265** (October), 64-73.

Discussão da evidência de que um aumento no nível de oxigênio atmosférico levou ao desenvolvimento dos organismos multicelulares, incluindo os grandes animais.

Lazcano A & Miller SL. (1994) How long did it take for life to begin and envolve to cyanobacteria? *J. Mol. Evol.* **39**, 546-554.

Lazcano A & Miller SL. (1996) The origin and early evolution of life: prebiotic chemistry, the pre-RNA world, and time. *Cell* **85**, 793-798.

Breve revisão de recentes desenvolvimentos em estudos da origem da vida: atmosfera primitiva, ventos submarinos, origem autotrófica *versus* heterotrófica, o mundo do RNA e pré-RNA e o tempo exigido para o surgimento da vida.

Margulis L. (1992) *Symbiosis in Cell Evolution: Microbial Evolution in the Archean and Proterozoic Eons*, 2nd edn, W.H. Freeman and Company, New York.

Discussão clara da hipótese de que as mitocôndrias e os cloroplastos são descendentes das bactérias; todas as células eucarióticas surgiram a partir de simbioses microbianas.

Martin W & Mueller M. (1998) The hydrogen hypothesis for the first eukaryote. *Nature* **392**, 37-41.

Uma nova hipótese interessante para a origem das células eucarióticas, baseada na bioquímica comparativa do metabolismo energético. Ela postula que as células eucarióticas surgiram da fusão de uma eubactéria produtora de H_2 com uma arqueobactéria rigorosamente dependente de H_2.

Schopf JW. (1992) *Major Events in the History of Life*, Jones and Bartlett Publishers, Boston.

Vidal G. (1984) The oldest eukaryotic cell. *Sci. Am.* **250** (February), 48-57.

Relações entre Arqueo e Eubacteria

Brow JR & Doolittle WF. (1997) Archaea and the prokaryote-to-eukaryote transition. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **61**, 456-502.

Uma discussão muito completa dos argumentos para colocar a Arqueo sobre o ramo filogenético que levou aos organismos multicelulares.

Keeling PJ & Doolittle WF. (1995) Archaea: narrowing the gap between prokaryotes and eukaryotes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**, 5761-5764.

Madigan T & Marris BL. (1997) Extremophiles. *Sci. Am.* **276** (April), 82-87.

Uma contribuição bioquímica de arqueobactérias que vivem onde é mais quente, mais frio, mais salino, mais ácido e mais alcalino.

Revisões sobre a Arqueo. (1997) *Cell* **89**.

Esse volume contém cinco revisões da bioquímica e genômica da Arqueo e suas relações com os eucariotos: **Olsen GJ & Woese CR,** Archaeal genomics: an overview (pp. 991-994); **Edgell DR & Doolittle WF,** Archaea and the origin(s) of DNA replication proteins (pp. 995-998); **Reeve JN, Sandman K, & Daniels CJ,** Archaeal histones, nucleosomes, and transcription initiation (pp. 999-1002); **Belfort M & Weiner A,** Another bridge between kingdoms: tRNA splicing in Archaea and Eukaryotes (pp. 1003-1006); **Dennis PP,** Ancient ciphers: translation in Archaea (pp. 1007-1010).

Problemas

A seguir alguns problemas sobre o conteúdo do capítulo. Eles envolvem relações numéricas e geométricas simples que tratam das atividades e estrutura da célula. (Resolvendo os problemas ao final do capítulo, você pode desejar referir-se às tabelas impressas na contracapa.) Cada problema possui um título para fácil referência e discussão.

1. O tamanho das células e seus componentes

(a) Se você for aumentar uma célula 10.000 vezes (o que é um aumento típico encontrado usando um microscópio), em que tamanho ela aparecerá? Assuma que você está olhando uma célula eucariótica "típica" com um diâmetro celular de 50 microns.

(b) Se essa célula for uma célula muscular, quantas moléculas de actina estarão presentes, assumindo que não há outros componentes celulares presentes? (As moléculas de actina são esféricas com um diâmetro de 3,6nm; assumindo a célula muscular esférica. O volume de uma esfera é dado por $4/3\ \pi r^3$.)

(c) Se essa for uma célula do fígado com as mesmas dimensões, quantas mitocôndrias ela possui assumindo que não exista outros componentes celulares? (Assumindo a célula do fígado esférica. O volume de uma esfera é dado por $4/3\pi r^3$.)

(d) A glicose é o principal nutriente produtor de energia para a maioria das células. Assumindo que ela está presente numa concentração de 1mM, calcular quantas moléculas de glicose estarão presentes em nossa hipotética (e esférica) célula eucariótica? (O número de Avogadro, número de moléculas em 1 mol de uma substância não ionizável, é $6{,}02 \times 10^{23}$.)

(e) Hexoquinase é uma importante enzima no metabolismo da glicose pelas células (ver Capítulo 15). Se a concentração molar da hexoquinase em nossa célula eucariótica é 20μM, quantas moléculas de glicose estarão disponíveis para serem metabolizadas por cada molécula da enzima hexoquinase?

2. Componentes da *E. coli*. As células da *E. coli* têm a forma de um bastão de cerca de 2μm de comprimento e 0,8μm de diâmetro. O volume de um cilindro é dado por $\pi r^2 h$, onde h é a altura do cilindro.

(a) Se a densidade média da *E. coli* (principalmente água) é $1{,}1 \times 10^3$g/L, qual é o peso de uma única célula?

(b) A parede celular protetora da *E. coli* é de 10nm de espessura. Que porcentagem do volume total da bactéria ocupa a parede celular?

(c) A *E. coli* é capaz de crescer e multiplicar-se rapidamente por causa da inclusão em cada célula de cerca de 15.000 ribossomos esféricos (diâmetro 18nm), que realizam a síntese de proteínas. Que porcentagem do volume total celular ocupa os ribossomos?

3. Informação genética no DNA da *E. coli*. A informação genética contida no DNA consiste de uma seqüência linear sucessiva de unidades codificadoras, conhecidas como códons. Cada códon é uma seqüência específica de três nucleotídeos (três pares de nucleotídeos no DNA dupla fita) e cada códon codifica uma unidade de um único aminoácido numa proteína. O peso molecular de uma molécula de DNA da *E. coli* é cerca de $3{,}1 \times 10^9$. O peso molecular médio de um par de nucleotídeos é 660 e cada par de nucleotídeos contribui com 0,34nm do comprimento do DNA.

(a) Calcule o comprimento de uma molécula do DNA da *E. coli*. Compare o comprimento da molécula do DNA com as dimensões da célula (ver Problema 2). Como a molécula de DNA se ajusta na célula?

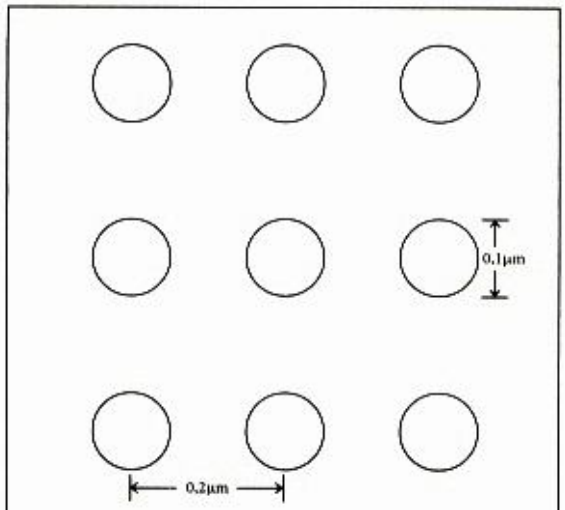
(b) Assuma que a proteína média na *E. coli* consista de uma cadeia de 400 aminoácidos. Qual é o número máximo de proteínas que podem ser codificadas por uma molécula de DNA da *E. coli*?

4. A alta velocidade do metabolismo bacteriano. As células bacterianas possuem uma velocidade de metabolismo muito maior do que as células animais. Em condições ideais algumas bactérias dobrarão de tamanho e se dividirão em 20min, enquanto a maioria das células animais requer 24h sob rápida condições de crescimento. A alta taxa do metabolismo bacteriano requer uma alta razão entre a área da superfície em relação ao volume celular.

(a) Por que a razão superfície/volume tem um efeito na velocidade máxima do metabolismo?

(b) Calcule a razão superfície/volume para a bactéria esférica *Neisseria gonorrhoeae* (diâmetro de 0,5μm), responsável pela doença gonorréia. Compare-a com a razão superfície/volume para uma ameba globular, uma grande célula eucariótica (diâmetro de 150μm). A área da superfície de uma esfera é dada por $4\pi r^2$.

5. Uma estratégia para se aumentar a área da superfície das células. Certas células, cuja função é absorver nutrientes, ou seja, as células que cobrem o intestino delgado ou as células pilosas da raiz de uma planta, estão otimamente adaptadas à sua função, porque a área da sua superfície exposta está aumentada pelas microvilosidades. Considere uma célula epitelial esférica (diâmetro 20μm) cobrindo o intestino delgado. Como apenas uma parte da superfície celular está voltada para o interior do intestino, assuma que um "fragmento" ("patch") correspondendo a 25% da área da célula seja coberto com microvilosidades. Além disso, assuma que as microvilosidades sejam cilindros de 0,1μm de diâmetro, 1,0μm de comprimento e espaçadas numa rede regular de 0,2μm do centro.



Arranjo de microvilosidade sobre o fragmento

(a) Calcule o número de microvilosidades no fragmento.

(b) Calcule a área da superfície do fragmento, assumindo que ele não tenha microvilosidades.

(c) Calcule a área da superfície do fragmento, assumindo que ele tenha microvilosidades.

(d) Que porcentagem de melhoria da capacidade de absorção (refletida pela razão superfície/volume) a presença das microvilosidades oferece?

(e) Quais são as outras organelas e sistemas de órgãos que utilizam essa estratégia para aumentar a capacidade de absorção?

6. Transporte axonal rápido. Alguns neurônios possuem longas e finos processos chamados de axônios os quais são estruturas especializadas para conduzir sinais através de um organismo. Alguns processos axonais podem chegar a 2m, por exemplo, os axônios que se originam na medula espinhal e terminam nos músculos de seus dedos do pé, que chegam a 2m. Pequenas vesículas de membrana, transportando materiais essenciais para a função axonal, movem-se ao longo dos microtúbulos do corpo celular até a extremidade do axônio, pelo "transporte rápido axonal" dependente de cinesina.

(a) Se a velocidade média de uma vesícula é 1μm/s, quanto tempo levará para uma vesícula se movimentar desde o corpo celular da medula espinhal até a ponta axonal nos dedos do pé?

(b) O movimento de grandes moléculas nas células pela difusão é relativamente lento (por exemplo, a hemoglobina difunde-se a uma velocidade de aproximadamente 5μm/s). Entretanto, a difusão da sacarose em uma solução aquosa ocorre a uma velocidade próxima à do mecanismo de transporte rápido (cerca de 4μm/s). Quais são algumas vantagens para a célula ou um organismo do mecanismo de transporte direto, comparado ao que a célula pode realizar somente pela difusão?

(c) Alguns dos estudos que originalmente determinaram a velocidade do movimento vesicular foram realizados sobre microtúbulos *in vitro* (em uma placa). Para isolar os microtúbulos para esses estudos, neurônios intactos foram inicialmente homogeneizados (fragmentados) na presença de 0,2M de sacarose para impedir o inchaço osmótico e o rompimento das organelas intracelulares. Por que isso é uma importante consideração em estudos de fracionamento celular?

CAPÍTULO 3

Biomoléculas

O objetivo da bioquímica é explicar a forma e a função biológica em termos químicos. Uma das formas mais produtivas de se abordar o entendimento dos fenômenos biológicos tem sido aquela de purificar os componentes químicos individuais, tais como uma proteína de um organismo vivo, e caracterizar a sua estrutura química ou sua atividade catalítica. No início do estudo das biomoléculas e de suas interações, algumas questões básicas merecem atenção. Quais espécies de moléculas estão presentes nos organismos vivos e em quais proporções? Quais são as estruturas dessas moléculas e quais forças estabilizam suas estruturas? Quais são suas propriedades químicas e reatividades em isolamento? Como elas interagem umas com as outras? Como e onde as biomoléculas das primeiras células vivas se originaram?

Neste capítulo, faremos uma revisão dos princípios químicos que governam as propriedades das moléculas biológicas: a ligação covalente dos átomos de carbono entre si e com outros elementos, os grupos funcionais que ocorrem nas moléculas biológicas comuns, a estrutura tridimensional e a estereoquímica dos compostos de carbono, e os tipos de reações químicas comuns que ocorrem nos organismos vivos. Em seguida, discutiremos as unidades monoméricas e a contribuição da entropia para as variações de energia livre das reações nas quais essas unidades são polimerizadas para formar as macromoléculas. Finalmente, iremos considerar a origem das unidades monoméricas a partir dos compostos simples presentes na atmosfera terrestre durante os tempos pré-biológicos, isto é, a evolução química ou a evolução pré-biótica.

A composição química da matéria viva, tal como da "água-viva", difere da de seu ambiente físico, o qual é, para esse organismo, a água salgada.

Composição e Ligação Química

No final do século XVIII ficou evidente para os químicos que a composição da matéria viva era claramente diferente da do mundo inanimado. Antoine Lavoisier (1743-1794) notou a relativa simplicidade química do "mundo mineral" e contrastou-a com a complexidade do "mundo dos animais e das plantas"; este último, ele sabia, era composto por substâncias ricas nos elementos carbono, oxigênio, nitrogênio e fósforo.

Dos mais de 90 elementos químicos que ocorrem naturalmente, apenas cerca de 30 são essenciais para os organismos vivos. A maioria dos elementos químicos da matéria viva tem números atômicos relativamente pequenos; apenas cinco deles têm número atômico acima do do selênio, 34 (Fig. 3-1). Os quatro elementos químicos mais abundantes nos organismos, em termos das porcentagens do número total de átomos, são o hidrogênio, o oxigênio, o nitrogênio e o carbono, os quais, juntos, perfazem mais de 99% da massa da maioria das células. Eles são os elementos mais leves capazes de formar uma, duas, três e quatro ligações, respectivamente (Fig. 3-2). Em geral, os elementos mais leves formam as ligações químicas mais fortes. Os elementos químicos que comparecem em quantidades diminutas, microelementos (Fig. 3-1), representam uma fração minúscula do peso do corpo humano, mas são absolutamente essenciais à vida, usualmente porque são essenciais à função de proteínas específicas, incluindo as enzimas. A capacidade transportadora de oxigênio da molécula de hemoglobina, por exemplo, é absolutamente dependente de quatro íons ferro que perfazem somente 0,3% de sua massa.

As biomoléculas são compostos de carbono

A química dos organismos vivos está organizada ao redor do elemento carbono, o qual representa mais da metade do peso seco das células. No metano (CH_4), um átomo de carbono compartilha quatro pares de elétrons com quatro átomos de hidrogênio; cada um dos pares de elétrons compartilhados forma uma ligação simples. O carbono pode também estabelecer ligações simples e duplas com os átomos de oxigênio e com o de nitro-

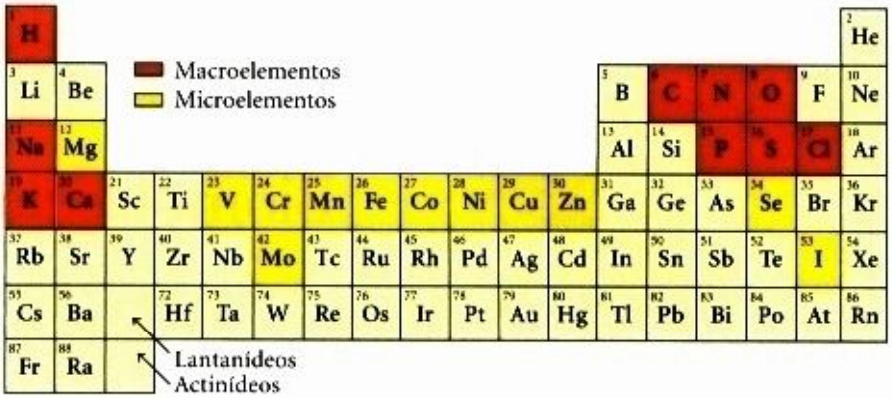


Figura 3-1 – Elementos essenciais para a vida animal e para a manutenção da saúde. Os macroelementos (sombreados em alaranjado) são componentes estruturais das células e dos tecidos e necessários na dieta em quantidades diárias medidas em gramas. Para os microelementos (sombreados em amarelo), as necessidades são muito menores: para os humanos bastam poucos miligramas por dia, tanto de ferro como de zinco, e ainda menos para muitos outros. As necessidades elementares das plantas e dos microrganismos são muito semelhantes àquelas mostradas aqui.

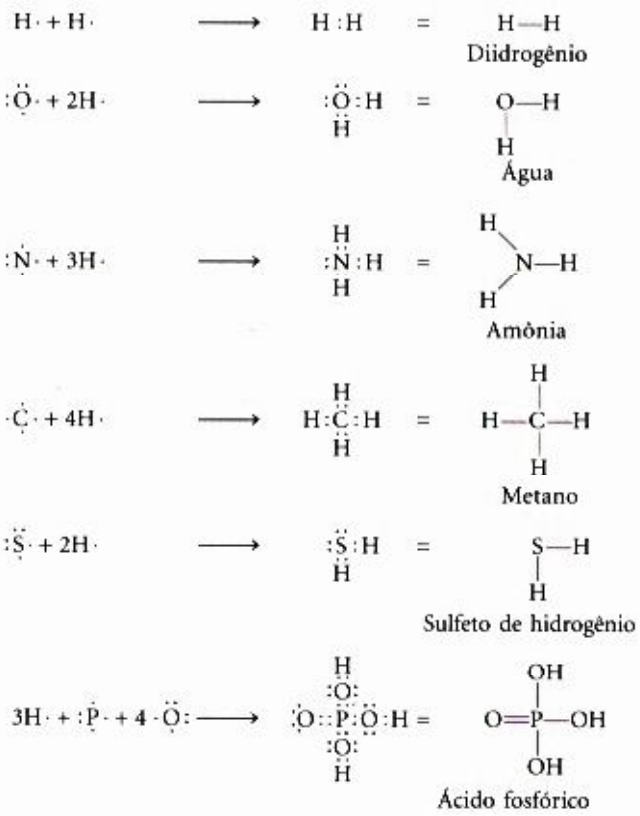


Figura 3-2 – Ligação covalente. Dois átomos com elétrons desemparelhados nas suas camadas externas podem formar ligações covalentes uns com os outros pelo partilhamento de pares de elétrons. Os átomos participantes de ligações covalentes tendem a preencher suas camadas eletrônicas externas.

Átomo	Número de elétrons desemparelhados (em vermelho)	Número de elétrons nas camadas externas completas
H·	1	2
:Ö·	2	8
:N·	3	8
·C·	4	8
:S·	2	8
:P·	3	8

gênio (Fig. 3-3). Da maior importância em biologia, é a capacidade de os átomos de carbono compartilharem pares de elétrons entre si para formar ligações simples carbono-carbono, as quais são muito estáveis. Cada átomo de carbono também pode formar ligações simples com um, dois, três ou quatro outros átomos de carbono. Dois átomos de carbono podem também compartilhar dois (ou três) pares de elétrons, formando assim ligações duplas ou triplas carbono-carbono (Fig. 3-3).

As quatro ligações simples que podem ser estabelecidas por um átomo de carbono estão dispostas tetraedricamente, com um ângulo de 109,5° entre duas ligações quaisquer (Fig. 3-4) e um comprimento médio de 0,154nm. Os grupos participantes de cada ligação simples carbono-carbono podem girar livremente ao redor dela; essa liberdade sofre restrições somente quando essas ligações estão ocupadas por grupos muito grandes ou quando são portadoras de cargas elétricas muito altas. Uma dupla ligação carbono-carbono é mais curta (perto de 0,134nm) e mais rígida, e, por isso, permite uma liberdade de rotação muito menor ao longo do seu eixo.

Os átomos de carbono unidos entre si covalentemente podem formar cadeias lineares, cadeias ramificadas e estruturas cíclicas. Outros grupos de átomos, chamados de **grupos funcionais**, são adicionados a esses esqueletos carbônicos, o que confere propriedades químicas específicas à molécula assim formada.

As moléculas que contêm esqueletos carbônicos são chamadas de **compostos orgânicos**; eles ocorrem em uma variedade quase ilimitada. A maioria das biomoléculas são compostos orgânicos; portanto, podemos inferir que a versatilidade de ligação do carbono foi um fator maior na seleção dos compostos de carbono para a maquinaria molecular das células durante a origem e a evolução dos organismos vivos. Nenhum outro elemento químico pode formar moléculas com tanta diversidade de formas e de tamanhos ou com tal variedade de grupos funcionais.

Os grupos funcionais determinam as propriedades químicas

A maioria das biomoléculas pode ser vista como derivada dos hidrocarbonetos, os quais são compostos formados por um esqueleto de átomos de carbono ligados covalentemente entre si e aos quais estão ligados apenas átomos de hidrogênio. Os esqueletos carbônicos desses compostos são muito estáveis. Os átomos de hidrogênio podem ser substituídos individualmente por uma grande variedade de grupos funcionais para formar famílias diferentes de compostos orgânicos. Famílias típicas de compostos orgânicos são: os álcoois, os quais possuem um ou mais grupos hidroxila; as aminas, possuidoras do grupo funcional amino; os aldeídos e as cetonas, os quais possuem o grupo carbonila; e os ácidos carboxílicos, que exibem os grupos carboxilas (Fig. 3-5).

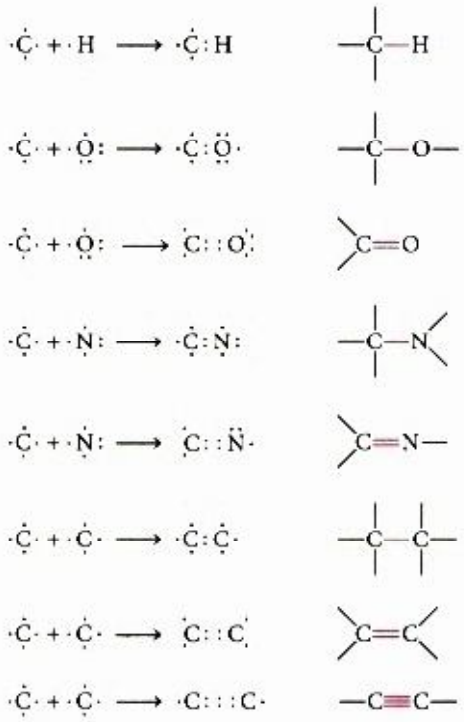


Figura 3-3 – Observe a versatilidade do átomo de carbono em formar ligações covalentes simples, duplas e triplas (estas em vermelho), particularmente consigo mesmo. As ligações triplas raramente ocorrem em biomoléculas.

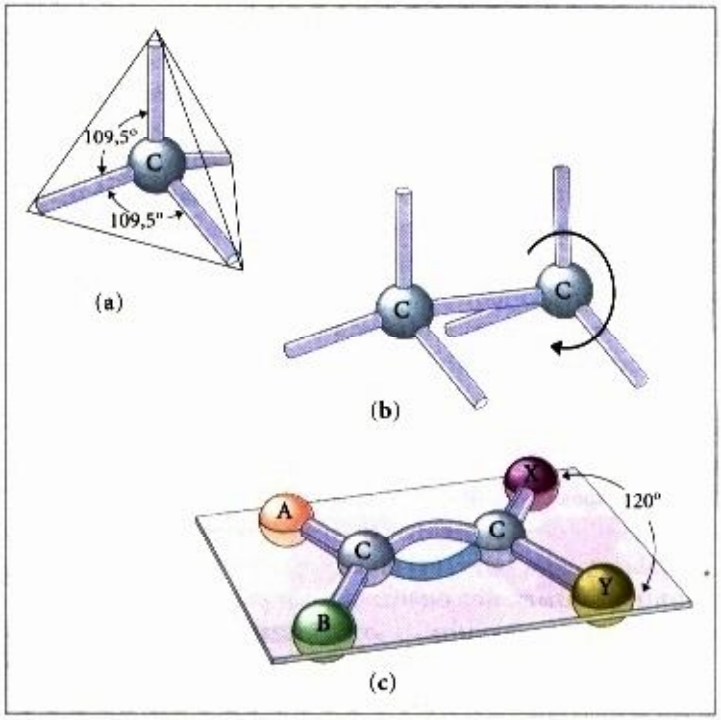


Figura 3-4 – Geometria da ligação do carbono. (**a**) Os átomos de carbono têm um arranjo tetraédrico característico de suas quatro valências, estas têm 0,154nm de comprimento e um ângulo de 109,5° entre uma e outra. (**b**) Ligações simples carbono-carbono têm liberdade de rotação ao redor de seu eixo e isso é mostrado, na figura, para o composto etano (CH_3—CH_3). (**c**) Ligações duplas carbono-carbono são mais curtas e não permitem livre rotação dos grupos ligados por elas. As ligações simples, pertencentes a cada um dos átomos de carbono unidos por ligação dupla, fazem um ângulo de 120° entre si. Os dois átomos de carbono unidos por ligação dupla e os átomos designados por A, B, X e Y estão todos em um mesmo plano rígido.

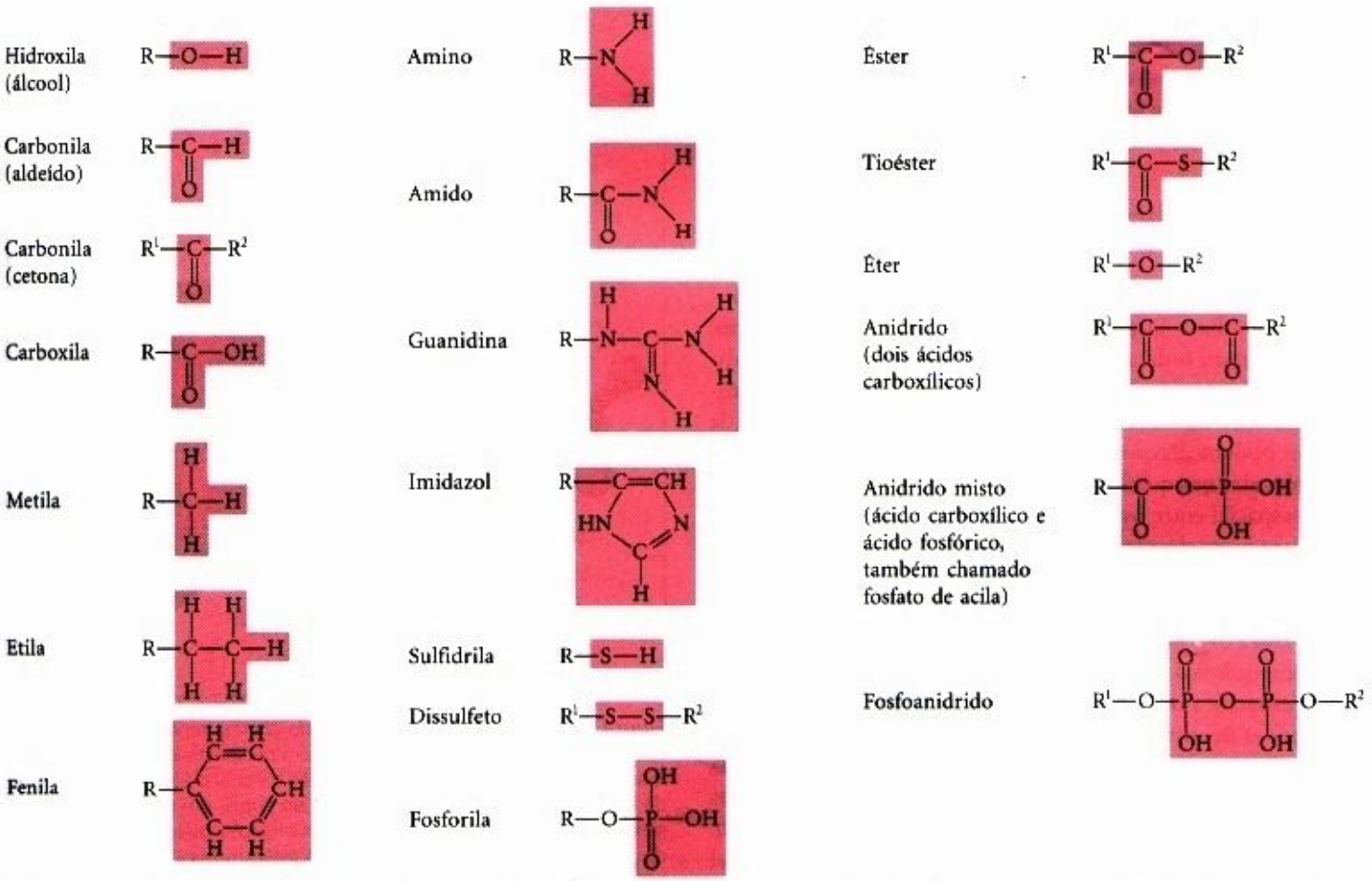


Figura 3-5 – Alguns dos grupos funcionais comuns de biomoléculas. Todos os grupos são mostrados em sua forma neutra (não-ionizada). Nesta figura e em toda parte do livro, usamos R para representar "qualquer substituinte". Pode ser um simples átomo de H, mas tipicamente ele é uma porção que contém carbono. Quando dois ou mais substituintes são mostrados em uma molécula, designamo-los R^1, R^2, e assim por diante.

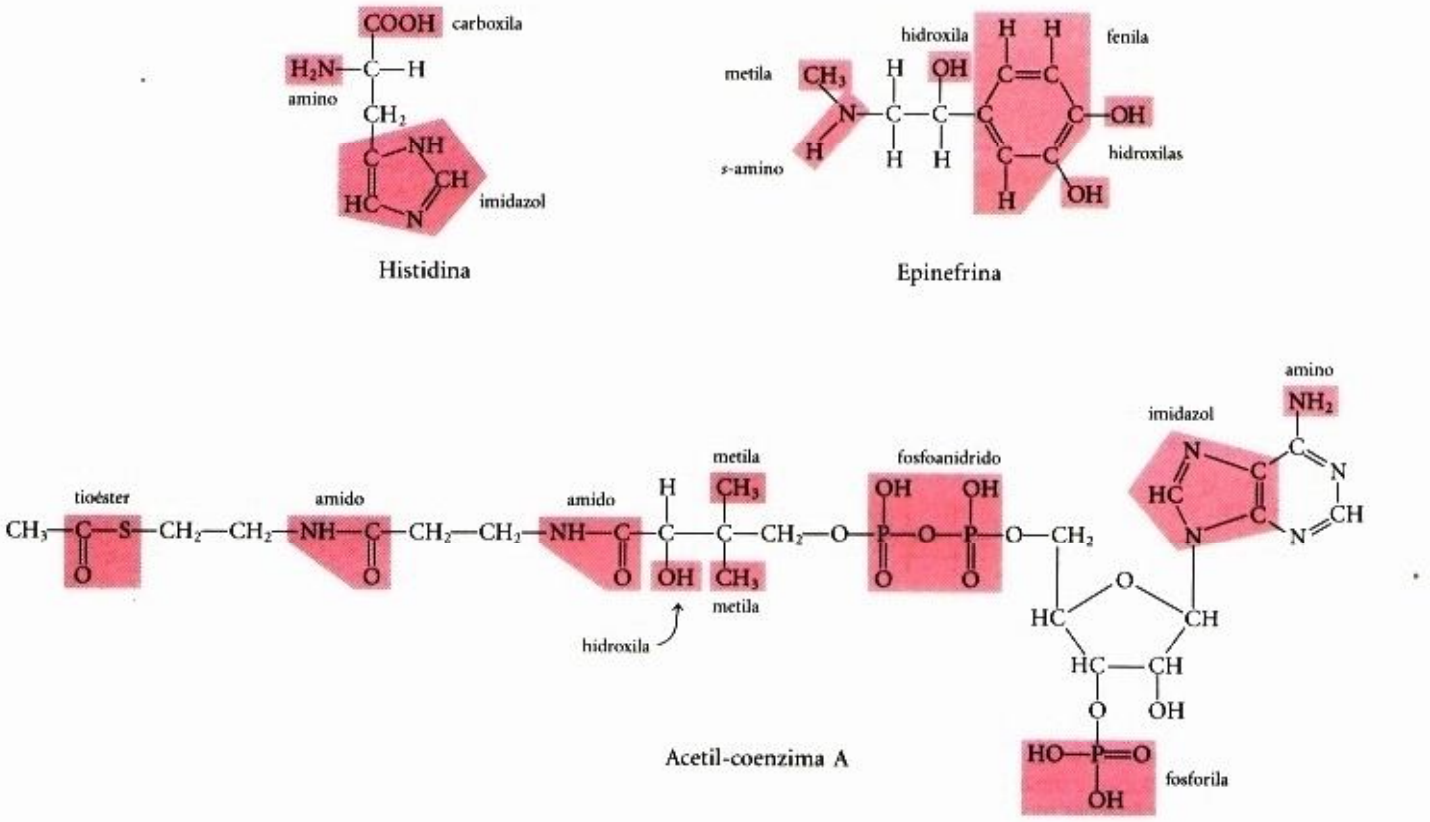


Figura 3-6 – Grupos funcionais comuns nas biomoléculas. Histidina é um dos aminoácidos encontrados em proteínas; epinefrina é um hormônio; acetil-coenzima A é um transportador de grupos acetil em algumas reações enzimáticas. Note que o grupo amino na epinefrina é um grupo amino secundário (s) com um de seus hidrogênios amínicos substituído por outro grupo.

Muitas biomoléculas são polifuncionais, contendo dois ou mais grupos funcionais diferentes (Fig. 3-6), cada um com suas reações químicas características. A "personalidade" química de um composto como epinefrina ou acetil-coenzima A é determinada pela química de seus grupos funcionais e a disposição destes no espaço tridimensional.

Estrutura Tridimensional: Configuração e Conformação

Embora as ligações covalentes e os grupos funcionais das biomoléculas tenham importância central para a função destas, eles não contam toda a história; o arranjo espacial em três dimensões dos átomos de uma biomolécula — sua estereoquímica — é também crucialmente importante. Os compostos de carbono podem, freqüentemente, existir como **estereoisômeros**, moléculas nas quais a ordem das ligações é a mesma, mas a relação espacial entre os átomos é diferente. Interações moleculares entre biomoléculas são invariavelmente estereoespecífica; isto é, elas requerem estereoquímica específica nas moléculas interativas.

A Figura 3-7 mostra três maneiras de ilustrar a configuração estereoquímica das moléculas simples. O diagrama em perspectiva especifica de forma não-ambígua a configuração (estereoquímica) de um composto. O modelo bola-e-bastão representa melhor os ângulos entre as ligações e o comprimento da ligação centro a centro, enquanto os contornos das moléculas são mais bem representados pelos modelos do tipo espaço-cheio. Nestes últimos modelos, o raio de cada átomo é proporcional ao seu raio de van der Waals (Tabela 3-1) e os contornos da molécula representam os limites externos da região da qual são excluídos outros átomos e moléculas.

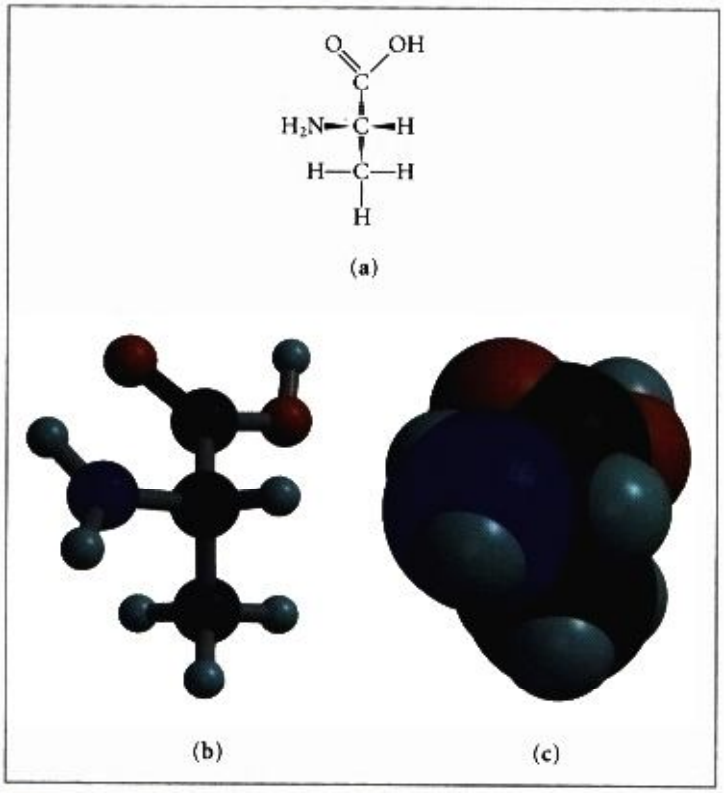


Figura 3-7 – A estrutura do aminoácido alanina representada por diferentes modelos. (**a**) Fórmula estrutural em perspectiva. O símbolo na forma de cunha (—) representa uma ligação na qual o átomo na extremidade larga projeta-se para fora do plano do papel, em direção ao leitor; o símbolo pontilhado (- - -) representa uma ligação que se dirige para trás do plano do papel. (**b**) Modelo bola-e-bastão mostrando os comprimentos relativos das ligações e os ângulos formados entre elas. As bolas indicam o tamanho aproximado dos núcleos atômicos. (**c**) Modelo do tipo espaço-cheio, no qual cada átomo é mostrado com o seu raio de van der Waals correto (veja a Tabela 3-1).

Tabela 3-1 – Raio de van der Waals e raio da ligação covalente (ligação simples) de alguns elementos*

Elemento	Raio de van der Waals (nm)	Raio covalente para a ligação simples (nm)
H	0,1	0,030
O	0,14	0,074
N	0,15	0,073
C	0,17	0,077
S	0,18	0,103
P	0,19	0,110
I	0,22	0,133

* Para cada elemento, o raio de van der Waals é cerca de duas vezes maior que o raio covalente. Em uma interação de van der Waals ou em uma ligação covalente, a distância entre os núcleos é aproximadamente igual à soma desses valores para os dois átomos. Assim, o comprimento de uma ligação simples carbono-carbono é cerca de 0,077 + 0,077 = 0,154nm.

A configuração de uma molécula é mudada somente pela quebra de uma ligação

Configuração é o arranjo espacial de uma molécula orgânica, que lhe é conferido ou (1) pela presença de duplas ligações, ao redor das quais não existe liberdade de rotação, ou então (2) por centros quirais, ao redor dos quais os grupos substituintes estão arranjados em uma seqüência específica. A característica identificadora dos isômeros configuracionais é que eles podem ser convertidos um no outro sem a quebra de uma ou mais ligações covalentes.

A Figura 3-8a mostra a configuração do ácido maléico e de seu isômero, o ácido fumárico. Esses compostos são **isômeros geométricos** ou **isômeros cis-trans**; eles diferem no arranjo de seus grupos substituintes com respeito à dupla ligação, a qual é incapaz de girar. O ácido maléico é o isômero cis, e o ácido fumárico é o isômero trans; cada um deles é um composto bem definido e pode ser isolado, tendo propriedades químicas únicas — um sítio de ligação (por exemplo, em uma enzima) que é complementar a uma dessas moléculas não seria apropriado para a outra, o que explica o porquê desses compostos terem papéis biológicos distintos, apesar de sua semelhança química.

Quatro substituintes diferentes ligados a um átomo de carbono tetraédrico podem estar arranjados espacialmente em duas formas diferentes (isto é, ter duas configurações; Fig. 3-9), produzindo dois estereoisômeros com propriedades químicas idênticas ou similares, porém diferindo em certas propriedades físicas e biológicas. Um átomo de carbono com quatro substituintes diferentes é dito assimétrico, e carbonos assimétricos são chamados **centros quirais** (do grego *chiros*, "mão", alguns estereoisômeros estão relacionados estruturalmente como a mão direita está para a esquerda). Uma molécula com um carbono quiral pode ter apenas dois estereoisômeros, mas quando dois ou mais (n) carbonos quirais estão presentes, podem existir 2^n estereoisômeros. Alguns estereoisômeros são imagens especulares um do outro e são chamados de **enantiômeros** (Fig. 3-9). Pares de estereoisômeros que não são imagens especulares um do outro são chamados de **diastereômeros** (Fig. 3-10).

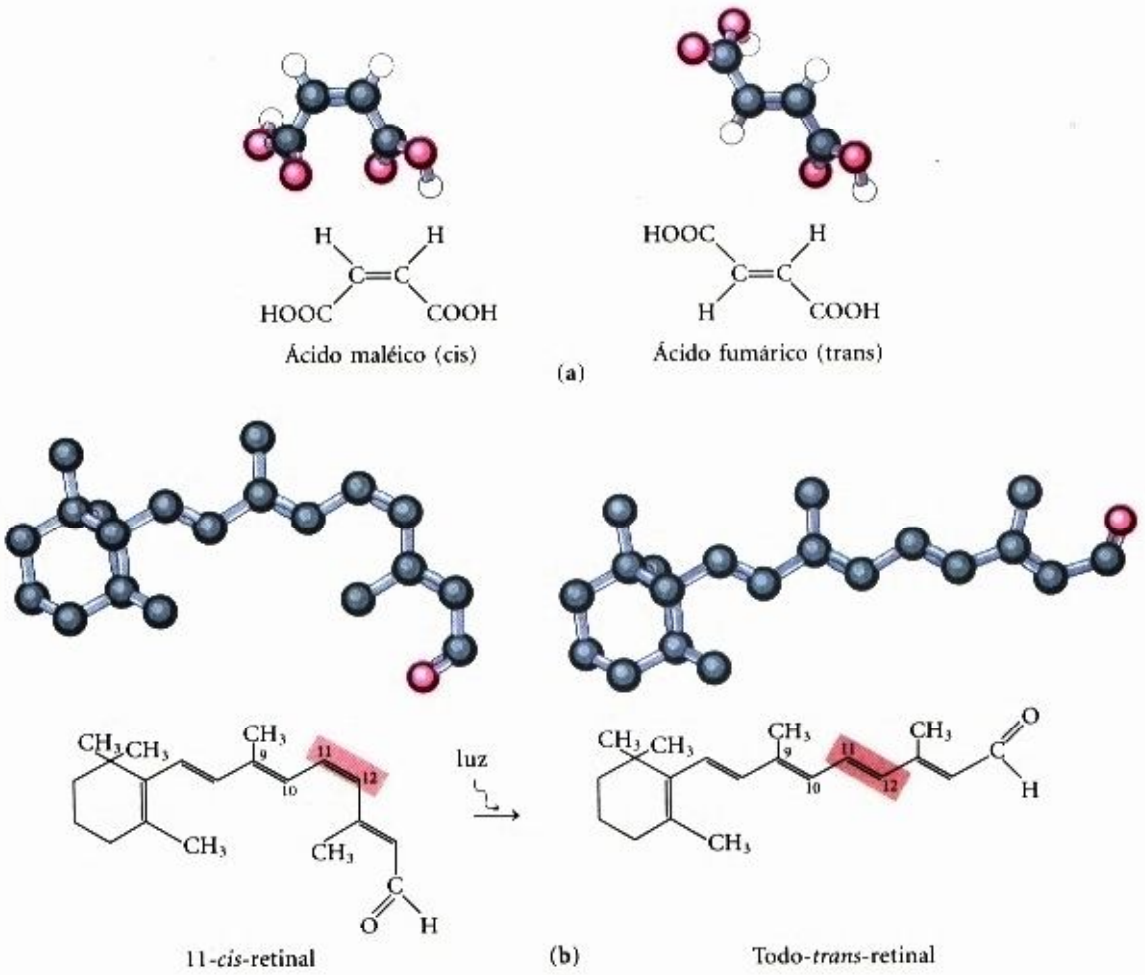


Figura 3-8 – Configurações de isômeros geométricos. (**a**) Os isômeros como o ácido maléico e o ácido fumárico não podem ser interconvertidos sem a quebra de ligações covalentes, o que requer o fornecimento de uma grande quantidade de energia. (**b**) Na retina de vertebrados, o evento inicial na detecção da luz é a absorção da radiação visível pelo 11-*cis*-retinal comum. A energia da luz absorvida (cerca de 250kJ/mol) converte o 11-*cis*-retinal em todo-*trans*-retinal, desencadeando mudanças elétricas na célula da retina que levam à formação do impulso nervoso.

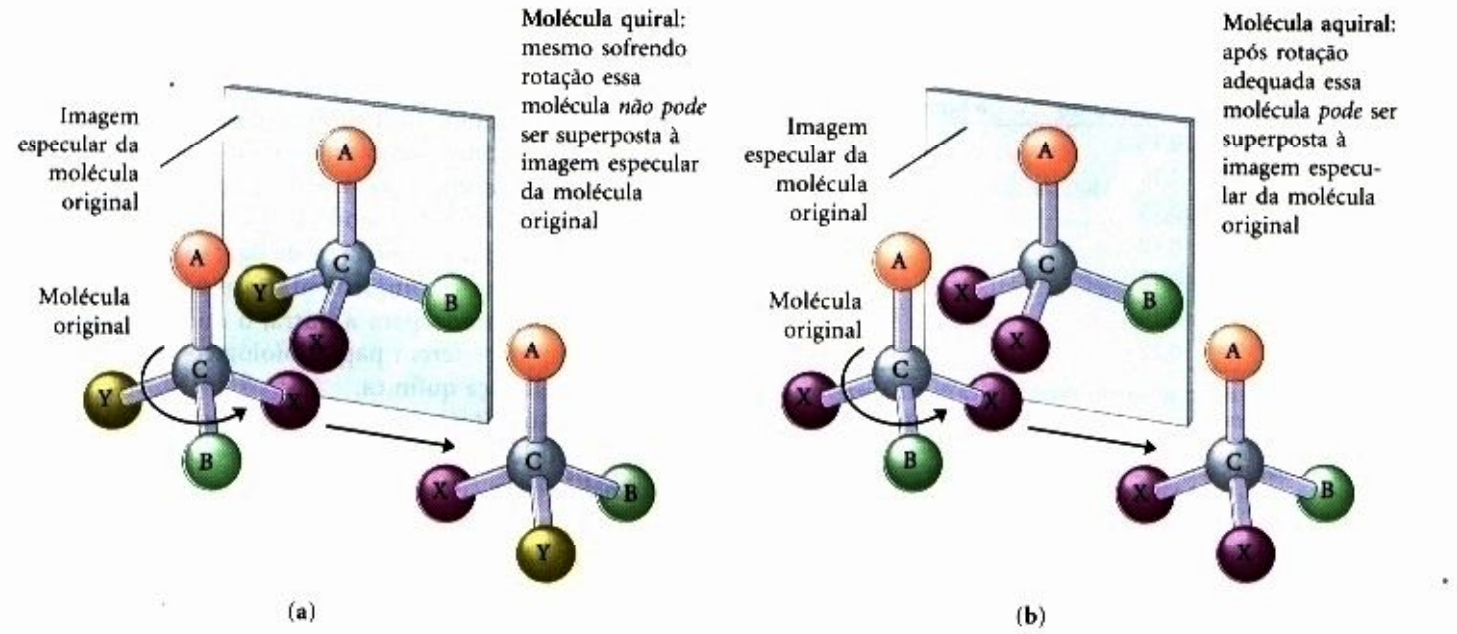


Figura 3-9 – Assimetria molecular: moléculas quirais e aquirais. (**a**) Quando um átomo de carbono tem quatro grupos substituintes diferentes (A, B, X, Y), eles podem ser arranjados de duas formas que representam imagens especulares não-superponíveis (enantiômeros). Um tal átomo de carbono é assimétrico e chamado átomo quiral ou centro quiral. (**b**) Quando há apenas três grupos químicos diferentes ligados a um mesmo átomo de carbono (isto é, um mesmo grupo ocorre duas vezes), apenas uma configuração espacial é possível e a molécula é simétrica, ou aquiral. Neste caso, a molécula é superponível à sua imagem especular: a molécula à esquerda pode ser girada em direção anti-horária (ao redor do eixo definido pela ligação A—C e no sentido de A para C) para criar a molécula em espelho.

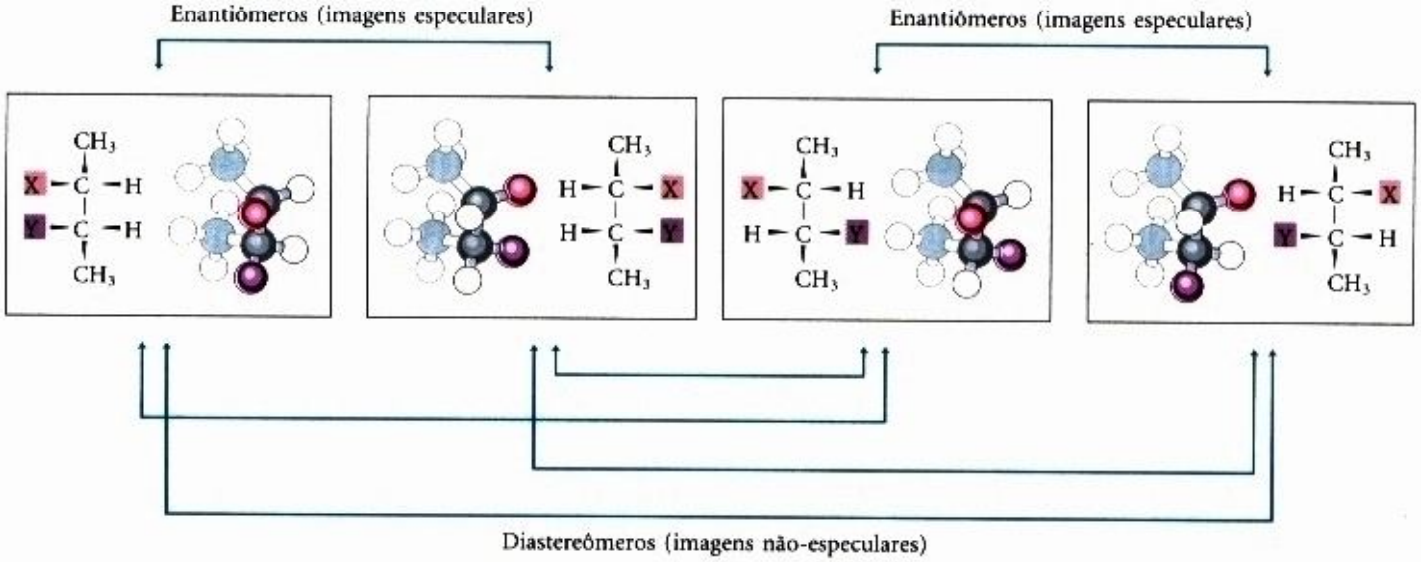


Figura 3-10 – Dois tipos de estereoisômeros. Existem quatro butanos diferentes 2,3 dissubstituídos (n = 2 carbonos assimétricos, e por isso 2^n = 4 estereoisômeros). Cada um é mostrado em um boxe, com a fórmula estrutural em perspectiva e com o modelo bola-e-bastão, que sofreu rotação para permitir ao leitor ver todos os grupos. Alguns pares de estereoisômeros são imagens especulares um do outro, portanto enantiômeros. Outros pares não são imagens em espelho, estes são diastereômeros. (Adaptado de Carrol F. (1998) *Perspectives on Structure and Mechanism in Organic Chemistry*, p. 63, Brooks/Cole Publishing Co., Pacific Grove, CA.)

Como Louis Pasteur observou (Adendo 3-1), enantiômeros têm propriedades químicas idênticas, porém diferem em uma propriedade física característica, sua interação com a luz plano-polarizada. Em soluções separadas, dois enantiômeros giram o plano da luz plano-polarizada em direções opostas, mas soluções equimolares de dois enantiômeros (**misturas racêmicas**, na terminologia de Pasteur) não mostram rotação óptica. Compostos sem centros quirais não giram o plano da luz plano-polarizada.

Interações biológicas (entre enzima e substrato, receptor e hormônio, ou anticorpo e antígeno, por exemplo) são estereoespecíficas: o "encaixe" nessas interações necessita ser estereoquimicamente correto. A estrutura de uma biomolécula precisa ser chamada e representada de forma clara para que sua estereoquímica não seja ambígua. Para compostos com mais de um centro quiral, o sistema RS de nomenclatura é freqüentemente mais útil que o sistema D e L descritos no Capítulo 5. No sistema RS, cada grupo ligado ao carbono quiral recebe *uma prioridade*. As prioridades de alguns substituintes comuns são

$$-OCH_2 > -OH > -NH_2 > -COOH > -CHO > -CH_2OH > -CH_3 > -H$$

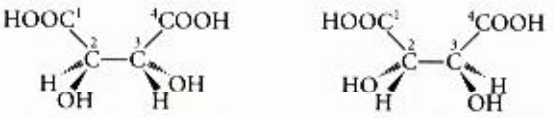
Adendo 3-1 Louis Pasteur e a atividade óptica: *in vino, veritas*

Louis Pasteur
(1822-1895)

Louis Pasteur, em 1843, foi o primeiro a oferecer uma explicação correta para o fenômeno chamado de **atividade óptica**, durante suas investigações do material cristalino que se acumulava nos barris de vinho ("ácido paratartárico", também chamado de ácido racêmico, da palavra latina *racemus*, isto é, "cacho de uvas"). Ele usou uma pinça muito fina para separar dois tipos de cristais de forma semelhante, porém imagens especulares um do outro. Ambos provaram ter todas as características químicas do ácido tartárico, porém um deles girava a luz plano-polarizada para a esquerda (levorrotatório) e o outro para a direita (dextrorrotatório). Depois, Pasteur descreveu o experimento e sua interpretação:

> "Nos corpos isoméricos, os elementos e as proporções nos quais eles estão combinados são os mesmos, apenas o arranjo dos átomos é diferente... Nós sabemos, por um lado, que o arranjo molecular dos dois ácidos tartáricos é assimétrico e, por outro lado, que esses arranjos são absolutamente idênticos, à exceção de que eles exibem a assimetria em direções opostas. Estarão os átomos do dextro-ácido agrupados na forma de uma espiral orientada à direita, ou então colocados no ápice de um tetraedro irregular, ou então dispostos de acordo com tal ou qual arranjo assimétrico? Nós não o sabemos".*

Hoje, nós o sabemos. Estudos de cristalografia de raios X, em 1951, confirmaram que as formas levo e dextrorrotatórias do ácido tartárico são imagens especulares uma da outra e estabeleceram a configuração absoluta de cada uma delas (Fig. 1). A mesma abordagem foi usada para demonstrar que o aminoácido alanina tem duas formas estereoisoméricas (designadas D e L), no entanto a alanina nas proteínas existe exclusivamente em uma forma (o isômero L, veja Capítulo 5).



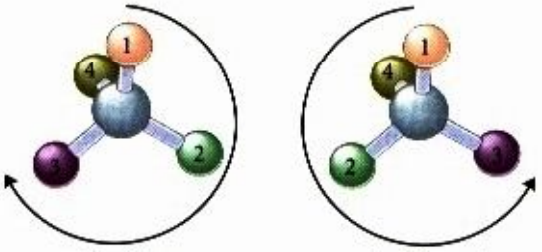
(2*R*,3*R*)-ácido tartárico (dextrorrotatório)

(2*S*,3*S*)-ácido tartárico (levorrotatório)

Figura 1 – Pasteur separou os cristais dos dois estereoisômeros do ácido tartárico e mostrou que soluções das formas separadas giravam a luz plano-polarizada na mesma extensão, porém em direções opostas. As formas dextro e levorrotatórias de Pasteur foram depois demonstradas como sendo os isômeros (*R*,*R*) e (*S*,*S*) mostrados aqui. O sistema RS de nomenclatura é descrito no texto.

* Extraído da conferência de Pasteur na Société Chimique de Paris em 1883, citado em DuBos R. (1976) *Louis Pasteur: Free Lance of Science*, p. 95, Charles Scribner's Sons, New York.

O átomo de carbono quiral é observado com o grupo de menor prioridade (4) apontado para longe do observador. Se a prioridade dos outros três grupos (1 a 3) diminui em direção horária, a configuração é *R* (do latim *rectus*, "direita"), se em direção anti-horária, a configuração é *S* (do latim *sinister*, "esquerda").



Horário (*R*)

Anti-horário (*S*)

Dessa forma, cada carbono quiral é designado ou como *R* ou como *S*, e a inclusão dessas designações no nome do composto fornece uma descrição sem ambigüidades da estereoquímica em cada centro quiral.

A conformação molecular é alterada pela rotação ao redor das ligações simples

O termo **conformação** molecular refere-se ao arranjo espacial dos grupos substituintes que são livres para assumir diferentes posições no espaço, sem a quebra de qualquer ligação, devido à liberdade de rotação da ligação. Por exemplo, no etano, um hidrocarboneto simples, existe uma liberdade de rotação quase completa ao redor da ligação simples carbono-carbono. Muitas conformações moleculares do etano, diferentes e interconvertíveis, são possíveis, dependendo do grau de rotação (Fig. 3-11).

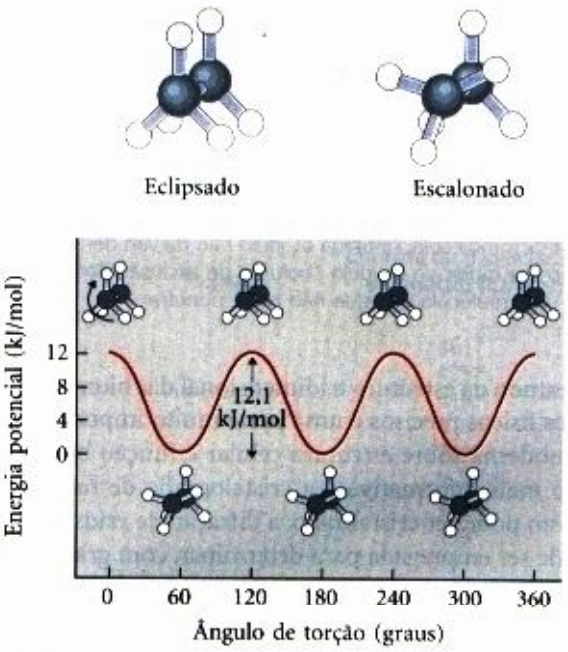


Figura 3-11 – Muitas conformações do etano são possíveis devido à liberdade de rotação ao redor da ligação simples carbono-carbono. Quando o átomo de carbono frontal (como visto pelo leitor) e os três átomos de hidrogênio a ele ligados giram em relação ao átomo de carbono situado atrás, a energia potencial da molécula aumenta até um máximo alcançado na conformação totalmente eclipsada (ângulos de torção 0°, 120° etc.) e, então, cai na conformação toda escalonada (ângulos de torção 60°, 180° etc.). As diferenças de energia são suficientemente pequenas para permitirem uma rápida interconversão das duas formas (milhões de vezes por segundo). Assim, as formas eclipsada e escalonada não podem ser isoladas uma da outra.

Duas dessas conformações são de interesse especial: a conformação escalonada que é muito mais estável que todas as outras e portanto predomina, e a forma eclipsada, que é a menos estável. Não é possível isolar nenhuma dessas formas conformacionais, porque elas são interconvertíveis e estão em equilíbrio uma com a outra. Entretanto, quando um ou mais átomos de hidrogênio em cada átomo de carbono é substituído por um grupo funcional que é muito grande ou eletricamente carregado, a liberdade de rotação ao redor da ligação simples carbono-carbono é diminuída. Isso limita o número de conformações estáveis dos derivados do etano.

Configuração e conformação definem estruturas de biomoléculas

A estrutura tridimensional de biomoléculas grandes e pequenas — a combinação entre configuração e conformação — é de extrema importância em suas interações biológicas. Por exemplo, na ligação de um substrato (reagente) ao sítio catalítico de uma enzima, as duas moléculas precisam ser estruturalmente complementares, para que a catálise ocorra com eficiência. Essa complementaridade também é requerida na ligação de uma molécula de hormônio ao seu receptor presente na membrana da célula e na interação entre uma molécula de antígeno com uma molécula de anticorpo específico (Fig. 3-12).

Figura 3-12 – Ajuste complementar de uma macromolécula e de uma pequena molécula. Um segmento de RNA da região regulatória TAR do genoma do HIV (cinza) e a argininamida (colorido), um resíduo de uma proteína que se liga nessa região, aqui são mostrados. A argininamida ajusta-se dentro de uma fenda na superfície do RNA e é mantida nessa orientação por várias interações não-covalentes com o RNA. Essa representação da molécula de RNA é produzida com o programa de computador GRASP®, que pode calcular a forma exterior de uma superfície de uma macromolécula, definida ou pelo raio de van der Waals de todos os átomos na molécula ou pelo "volume de exclusão do solvente" além do qual uma molécula de água não pode penetrar.

O estudo da estrutura tridimensional das biomoléculas com métodos físicos precisos é uma parte muito importante na pesquisa moderna sobre estrutura celular e função bioquímica. O método mais informativo é a cristalografia de raios X. Se um composto pode ser cristalizado, a difração de raios X pelos cristais pode ser empregada para determinar, com grande precisão, a posição de cada átomo em relação a cada um de todos os outros átomos. A estrutura da maioria das biomoléculas pequenas (aquelas com menos de 50 átomos), e muitas das moléculas maiores, como as proteínas, tem sido deduzida por esse meio.

A cristalografia de raios X fornece uma figura estática da molécula dentro dos limites do cristal. Entretanto, as biomoléculas quase nunca existem como cristais dentro da célula; elas estão dissolvidas no citosol ou associadas a algum outro componente da célula. Quando em solução, as moléculas têm mais liberdade de movimento intramolecular em comparação a quando em um cristal. Em moléculas grandes, como as proteínas, as pequenas variações permitidas às suas unidades monoméricas, de acordo com a estrutura tridimensional, adicionam-se de forma a conferir à molécula uma extrema flexibilidade. Várias técnicas, como a espectroscopia por ressonância nuclear magnética (RNM), complementam a cristalografia com raios X fornecendo informação a respeito da estrutura da biomolécula, quando em solução. O avanço da tecnologia, com a produção de campos magnéticos muito fortes, ampliou o uso da espectroscopia da RNM na determinação de estruturas de moléculas maiores, incluindo proteínas (Fig. 3-13). As técnicas de cristalografia de raios X e espectroscopia da RNM estão descritas adiante, no Adendo 6-3.

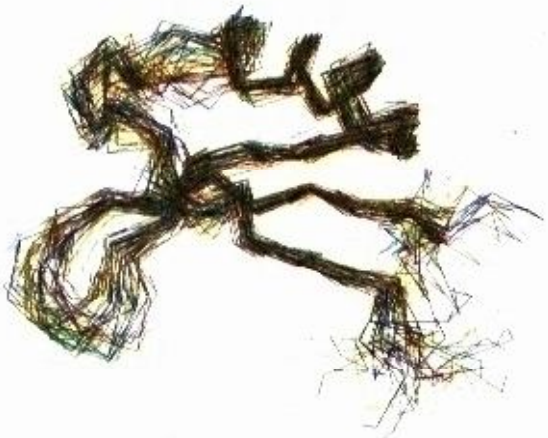


Figura 3-13 – Estrutura da proteína "*brazzein*" determinada por espectroscopia de RNM. "*Brazzein*", isolada do fruto da *Pentadiplandra*, uma planta do oeste da África, é 2.000 vezes mais doce que a sacarose (grama a grama). Nesta representação, somente a parte mais importante da estrutura da proteína é mostrada sem as cadeias individuais laterais de aminoácidos. Espectroscopia de RNM mostra que em solução a proteína pode assumir acima de 43 conformações muito semelhantes, sendo aqui cada uma mostrada em cores diferentes. Essa espécie de variabilidade conformacional não é vista por cristalografia de raios X, que requer que a proteína esteja congelada em uma conformação e em sua forma cristalina.

Interações entre biomoléculas são estereoespecíficas

As moléculas quirais nos organismos vivos estão geralmente presentes em apenas uma de suas formas quirais. Por exemplo, os aminoácidos que ocorrem nas proteínas o fazem apenas como os isômeros L. A glicose, a subunidade monomérica do amido, tem cinco carbonos assimétricos, porém biologicamente ocorre em apenas uma de suas formas quirais: o isômero D (as convenções para denominar os estereoisômeros dos aminoácidos estão descritas no Capítulo 5, e aquelas para os açúcares, no Capítulo 9). Quando um composto que tem um átomo de carbono assimétrico é sintetizado quimicamente no laboratório, as reações não-biológicas geralmente produzem todas as formas quirais possíveis, resultando em uma mistura equimolar que não gira a luz plano-polarizada (uma **mistura racêmica**). As formas quirais em tal mistura somente podem ser separadas por métodos físicos muito trabalhosos. Os compostos quirais nas células vivas são produzidos em apenas uma forma quiral, porque as enzimas que os sintetizam são também moléculas quirais.

Estereoespecificidade, a habilidade para distinguir entre estereoisômeros, é uma propriedade comum das enzimas e de outras proteínas, e uma característica peculiar da lógica molecular das células vivas. Se o sítio de ligação de uma proteína é complementar a um isômero de um composto quiral, ele não será complementar a outro isômero, pela mesma razão que uma luva da mão esquerda não se ajusta à mão direita. Dois exemplos da capacidade de os sistemas biológicos distinguirem entre os dois estereoisômeros são mostrados na figura 3-14. Receptores sensoriais específicos (para odor e para sabor) facilmente distinguem os membros de cada par de diastereômeros.

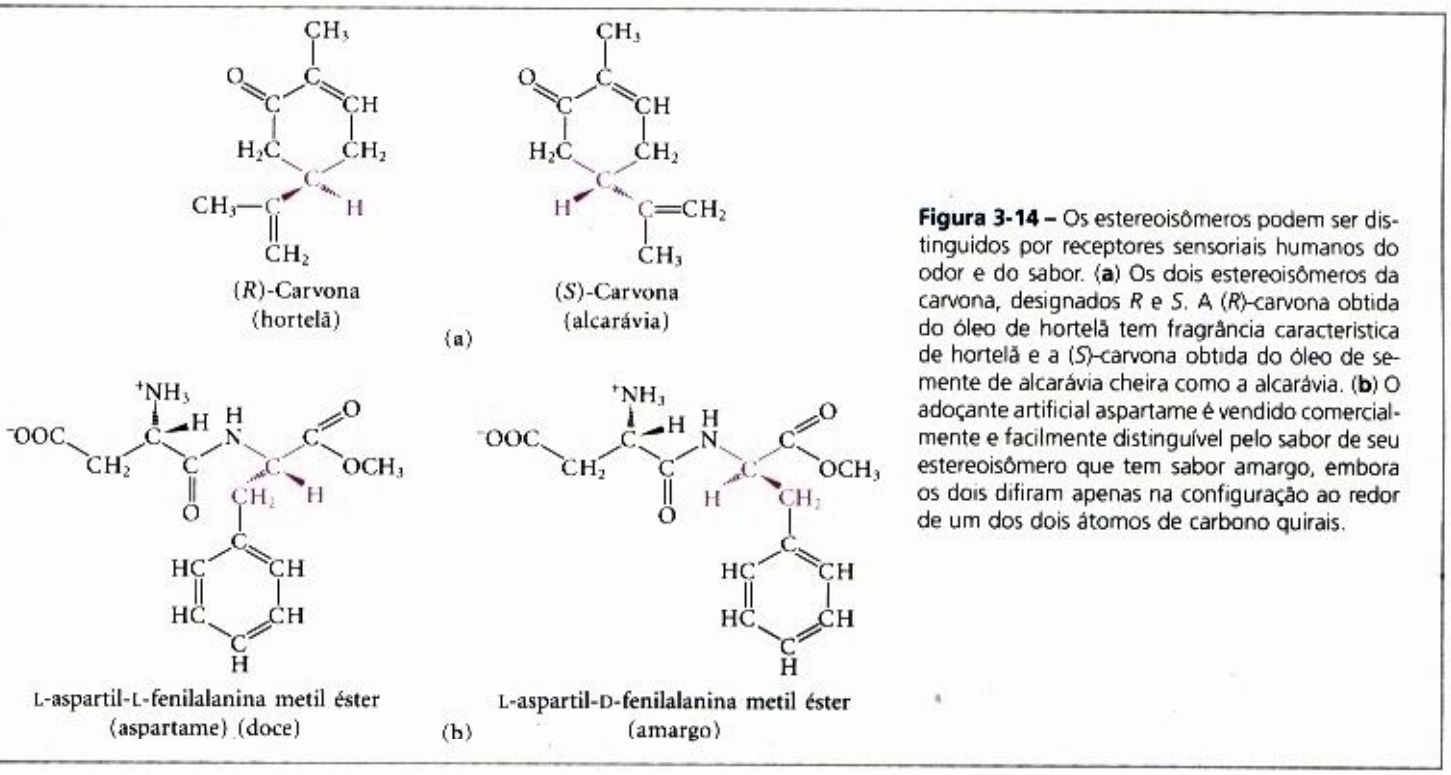


Figura 3-14 – Os estereoisômeros podem ser distinguidos por receptores sensoriais humanos do odor e do sabor. (**a**) Os dois estereoisômeros da carvona, designados *R* e *S*. A (*R*)-carvona obtida do óleo de hortelã tem fragrância característica de hortelã e a (*S*)-carvona obtida do óleo de semente de alcarávia cheira como a alcarávia. (**b**) O adoçante artificial aspartame é vendido comercialmente e facilmente distinguível pelo sabor de seu estereoisômero que tem sabor amargo, embora os dois difiram apenas na configuração ao redor de um dos dois átomos de carbono quirais.

Reatividade Química

Os mecanismos das reações bioquímicas, fundamentalmente, não são diferentes dos de outras reações químicas. Eles podem ser entendidos e previstos a partir da natureza dos grupos funcionais dos reagentes. Os grupos funcionais alteram a distribuição eletrônica e a geometria dos átomos vizinhos e dessa maneira afetam a reatividade química de toda a molécula. Embora um grande número de reações químicas diferentes ocorra em uma célula típica, essas reações são de apenas alguns tipos gerais. Brevemente serão revistos os aspectos fundamentais sobre ligação química e reatividade, e então resumidos os cinco tipos de reações mais comumente encontrados em bioquímica. As reações específicas serão consideradas em maiores detalhes posteriormente.

A força da ligação está relacionada às propriedades dos átomos que dela participam

Nas reações químicas, ligações são quebradas e novas são formadas. A força de uma ligação química depende de eletronegatividades relativas — as afinidades relativas por elétrons — dos elementos ligados (Tabela 3-2), da distância dos elétrons que participam da ligação em relação a cada um dos núcleos e da carga nuclear de cada átomo. O número de elétrons compartilhados também influencia a força da ligação; ligações duplas são mais fortes que ligações simples, e ligações triplas são ainda mais fortes (Tabela 3-3). A força de uma ligação química é expressa em joules, e conhecida como energia de ligação (em bioquímica, as calorias têm sido as unidades de energia mais freqüentemente empregadas, como por exemplo para expressar a força de ligação e a energia livre; o joule é a unidade de energia no Sistema Internacional de Unidades e será usado ao longo deste livro; para conversões, 1cal é igual a 4,184J). A energia de ligação pode ser imaginada quer como a quantidade de energia necessária para romper uma ligação quer como a quantidade de energia ganha pelo ambiente, quando os dois átomos formam essa ligação. Um meio de se introduzir energia em um sistema é aquecê-lo, o que dá às moléculas maior energia cinética; a temperatura é uma medida da energia cinética média de uma população de molé-

Tabela 3-2 – A eletronegatividade de alguns elementos químicos

Elemento	Eletronegatividade*	Elemento	Eletronegatividade*
F	4,0	Fe	1,8
O	3,5	Co	1,8
Cl	3,0	Ni	1,8
N	3,0	Mo	1,8
Br	2,8	Zn	1,6
S	2,5	Mn	1,5
C	2,5	Mg	1,2
I	2,5	Ca	1,0
Se	2,4	Li	1,0
P	2,1	Na	0,9
H	2,1	K	0,8
Cu	1,9		

* Quanto maior este número, tanto mais eletronegativo é o elemento.

Tabela 3-3 – Energia de dissociação (resistência) das ligações mais freqüentes nas biomoléculas

Tipo de ligação	Energia de dissociação da ligação (kJ/mol)
Ligações simples	
O—H	461*
H—H	435*
P—O	419*
C—H	414*
N—H	389*
C—O	352*
C—C	348*
S—H	339*
C—N	293*
C—S	260*
N—O	222*
S—S	214*
Ligações duplas	
C=O	712
C=N	615
C=C	611
P=O	502
Ligações triplas	
C≡C	816
N≡N	930

* Quanto maior a energia requerida para a dissociação da ligação (quebra), mais forte é essa ligação.

culas. Quando o movimento molecular é suficientemente violento, as vibrações intramoleculares e as colisões intermoleculares podem, em algumas ocasiões, quebrar as ligações químicas. O aquecimento aumenta a fração de moléculas com energia suficientemente alta para reagir. Quando o movimento molecular é suficientemente violento, vibrações intramoleculares e colisões intermoleculares, algumas vezes, quebram ligações e permitem a formação de novas.

Quando nas reações químicas as ligações são quebradas e novas ligações são formadas, a diferença entre a energia do ambiente usada para romper as ligações e a energia ganha pelo ambiente na formação de novas ligações é virtualmente idêntica à **variação da entalpia** para a reação, ΔH (a diferença de energia torna-se exatamente igual à variação da entalpia depois de uma pequena correção para a pequena variação do volume em sistemas com pressão constante). Se o sistema absorve energia na forma de calor à medida que a transformação ocorre (isto é, se a reação é **endotérmica**), então ΔH tem, por definição, um valor positivo; quando o calor é produzido, como nas reações **exotérmicas**, ΔH é negativo. De forma sucinta, a variação na entalpia para uma reação covalente reflete os tipos e o número dessas ligações que são sintetizadas e quebradas. Como veremos depois neste capítulo, a variação na entalpia é um dos três fatores que determinam a variação na energia livre para a reação; os outros dois são a temperatura e a mudança na entropia.

Nas células ocorrem cinco tipos gerais de transformações químicas

A maioria das células tem a capacidade de realizar milhares de reações específicas e enzimaticamente catalisadas como, por exemplo, a transformação de nutrientes simples, como a glicose em aminoácidos, nucleotídeos ou lipídios; a extração de energia dos alimentos por oxidação ou a polimerização de subunidades em macromoléculas. Felizmente para o estudante de bioquímica existe um padrão nessa multidão de reações. Nós não precisamos aprender todas essas reações para compreender a lógica molecular da vida.

A maioria das reações nas células vivas pertence a um dos cinco tipos (ou categorias) gerais: (1) oxidação-redução; (2) reações que formam ou quebram ligações carbono-carbono; (3) reações que rearranjam a estrutura das ligações ao redor de um ou mais átomos de carbono; (4) transferência de grupos funcionais; (5) reações nas quais duas moléculas se condensam com a eliminação de uma molécula de água. As reações em uma mesma categoria geral ocorrem por meio de mecanismos similares.

Todas as reações de oxidação-redução envolvem transferência de elétrons

Quando os dois átomos que compartilham elétrons em uma ligação covalente têm afinidade igual para os elétrons, como no caso de dois átomos de carbono, a ligação resultante é não-polar. Quando dois elementos que diferem em afinidade por elétrons, ou eletronegatividade (Tabela 3-2), formam uma ligação covalente (por exemplo, C e O), a ligação é polarizada; os elétrons compartilhados provavelmente estarão na região do átomo mais eletronegativo (O) e não naquela do átomo menos eletronegativo (C). No caso extremo de dois átomos de eletronegatividade muito diferente (Na e Cl, por exemplo), um dos átomos cede os elétrons para o outro átomo, resultando na formação de íons e interações iônicas, como aquelas existentes no cloreto de sódio (NaCl) sólido.

Nas ligações carbono-hidrogênio, o carbono mais eletronegativo possui os dois elétrons compartilhados com H, mas, nas ligações carbono-oxigênio, os dois elétrons estão deslocados unicamente em favor do oxigênio. Então, na transformação de $—CH_3$ (um alcano) para $—CH_2OH$ (um álcool), o átomo de carbono perde efetivamente elétrons — o que é, por definição, oxidação. A Figura 3-15 mostra que átomos de carbono encontrados em bioquímica podem existir em cinco estados de oxidação, dependendo dos elementos com os quais o carbono compartilha elétrons.

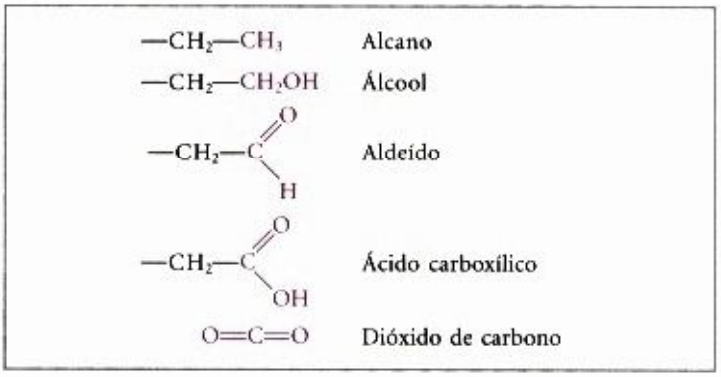


Figura 3-15 – Estados de oxidação do carbono em biomoléculas. Cada composto é formado pela oxidação de carbono (em vermelho) nos compostos listados acima. Dióxido de carbono é a forma mais oxidada do carbono encontrada nos sistemas vivos.

Em muitas oxidações biológicas, um composto perde dois elétrons e dois íons de hidrogênio (isto é, dois átomos de hidrogênio); essas reações são comumente chamadas de **desidrogenações** e as enzimas que as catalisam são chamadas de **desidrogenases** (Fig. 3-16). Em algumas, mas não em todas as oxidações biológicas, um átomo de carbono torna-se covalentemente ligado a um átomo de oxigênio. As enzimas que catalisam essas oxidações são geralmente chamadas de **oxidases** ou, se o átomo de oxigênio é diretamente derivado do oxigênio molecular (O_2), **oxigenases**.

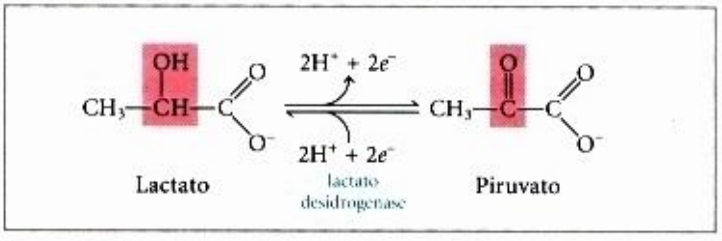


Figura 3-16 – Uma reação de oxidação-redução. A oxidação do lactato para piruvato é mostrada aqui. Nessa desidrogenação, dois elétrons e dois íons hidrogênio (o equivalente a dois átomos de hidrogênio) são removidos do C-2 do lactato, um álcool. Nas células, a reação é catalisada pela desidrogenase láctica e os elétrons são transferidos para um cofator chamado de nicotinamida adenina dinucleotídeo. Essa reação é totalmente reversível, piruvato pode ser reduzido pelos elétrons a partir do co-fator. Os fatores que determinam a direção de uma reação serão discutidos no Capítulo 14.

Toda oxidação é acompanhada de redução, na qual um grupo que recebe elétrons adquire os elétrons removidos pela oxidação. Reações de oxidação geralmente liberam energia (imagine um incêndio no campo, em que vários compostos da madeira são oxidados pelas moléculas de oxigênio do ar). A maioria das células vivas obtém a energia necessária para o trabalho celular oxidando combustíveis, como carboidratos ou gorduras; organismos fotossintéticos podem também

usar a energia da luz solar. As vias catabólicas (produtoras de energia) descritas nos Capítulos 15 a 19 são reações de oxidação-redução em cadeia que resultam na transferência de elétrons das moléculas combustíveis por meio de uma série de transportadores de elétrons até oxigênio. A afinidade alta do O_2 por elétrons torna todo o processo de transferência de elétrons altamente exergônico, fornecendo a energia que impulsiona a síntese de ATP — o objetivo central do catabolismo.

Ligações carbono-carbono são quebradas e formadas por reações de substituição nucleofílica

Uma ligação covalente pode ser quebrada de duas formas gerais (Fig. 3-17). Na quebra **homolítica**, cada átomo deixa a ligação como um radical, levando um dos dois elétrons (agora desemparelhado) que mantinha os átomos ligados. Reações homolíticas ocorrem raramente nos organismos vivos (veja Fig. 22-39 como um exemplo). Quebras **heterolíticas** são mais comuns, nas quais um átomo mantém os dois elétrons da ligação (formando um ânion), deixando o outro átomo com um elétron a menos (um cátion). Quando um segundo grupo rico em elétrons substitui o ânion que saiu, uma **substituição nucleofílica** ocorre (Fig. 3-18). Muitas reações bioquímicas envolvem interações entre **nucleófilos**, grupos funcionais ricos em elétrons e capazes de doá-los, e **eletrófilos**, grupos funcionais deficientes em elétrons, que procuram elétrons. Nucleófilos combinam com eletrófilos fornecendo-lhes elétrons. Grupos funcionais que contêm oxigênio, nitrogênio e enxofre são importantes nucleófilos biológicos (Tabela 3-4). Átomos de hidrogênio carregados positivamente (íons hidrogênio, ou prótons) e metais carregados positivamente (cátions) freqüentemente atuam como eletrófilos nas células. Um átomo de carbono pode atuar ou como um nucleófilo ou como um eletrófilo, dependendo de quais ligações e grupos funcionais o cercam.

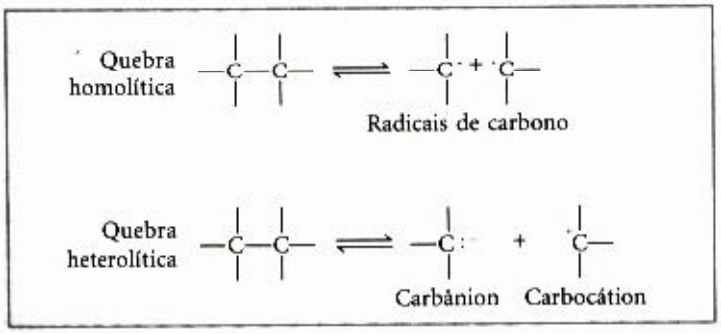


Figura 3-17 – Dois mecanismos de quebra de uma ligação C—C. Nas quebras homolíticas, cada átomo de carbono mantém um dos elétrons da ligação, resultando em dois radicais de carbono (isto é, carbonos tendo elétrons desemparelhados). Nas quebras heterolíticas, um dos dois átomos de carbono mantém os dois elétrons da ligação, produzindo um carbânion, e o outro se torna um carbocátion.

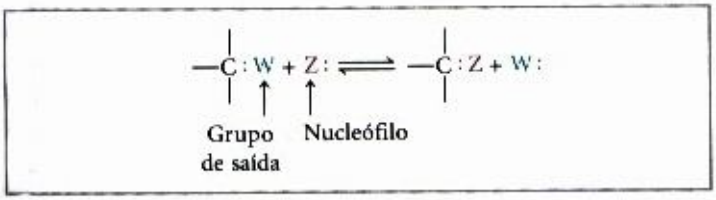
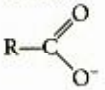
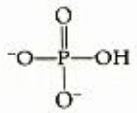


Figura 3-18 – Uma reação de substituição nucleofílica. Um nucleófilo rico em elétrons (Z) ataca um centro deficiente em elétrons (um átomo de carbono, por exemplo) e desloca um grupo nucleofílico (W), que é chamado de grupo de saída.

Tabela 3-4 – Alguns grupos funcionais que atuam como nucleófilos no interior das células*

Nome	Estrutura química
Água	$H\ddot{O}H$
Íon hidróxido	$H\ddot{O}:^-$
Hidroxila (álcool)	$R\ddot{O}H$
Alcóxido	$R\ddot{O}:^-$
Sulfidrila	RSH
Tiol	$R\ddot{S}:^-$
Amino	$R\ddot{N}H_2$
Carboxilato	
Imidazol	
Ortofosfato inorgânico	

* Listados em ordem decrescente. Nucleófilos mais fracos são melhores grupos de saída.

Existem dois mecanismos gerais pelos quais um nucleófilo pode substituir outro na formação de ligações carbono-carbono. No primeiro (Fig. 3-19a), o grupo de saída (o nucleófilo W, veja Fig. 3-18) parte com seus elétrons, deixando o parceiro como um carbocátion, relativamente instável (carbono carregado positivamente, um eletrófilo), antes que um grupo substituinte (Z, um nucleófilo) apareça em cena. Esse mecanismo é chamado **reação SN1** (SN1 indica substituição nucleofílica, unimolecular). No segundo tipo de substituição nucleofílica, um nucleófilo atacante (Z) chega antes que o grupo de saída (W) parta e transitoriamente se forma um intermediário pentavalente (Fig. 3-19b). Essa é uma **reação SN2** (substituição nucleofílica, bimolecular). Como a Figura 3-19 sugere, reações SN2 tipicamente resultam em uma inversão da configuração ao redor do carbono atacado após a partida do grupo de saída, enquanto reações SN1 usualmente resultam ou na retenção da configuração original ou na racemização. Em geral, nucleófilos fracos são melhores grupos de saída e os nucleófilos fortes são melhores espécies atacantes.

A condensação aldólica, catalisada pela aldolase (veja Fig. 15-4), é um exemplo de uma substituição nucleofílica, empregada para formar ligações carbono-carbono nas células. Essas reações são reversíveis; aldolase pode ligar duas espécies de três átomos de carbono para formar um açúcar de seis carbonos ou pode quebrar o açúcar de seis carbonos para formar duas espécies de três unidades de carbono cada.

Transferência de elétrons intramolecular produz rearranjos internos

Outro tipo de reação celular comum é o de rearranjo intramolecular no qual a redistribuição de elétrons resulta em isomerização, transposição de ligações duplas e rearranjos de ligações duplas cis-trans. Um exemplo de isomerização é a formação de frutose-6-fosfato a partir de glicose-6-fosfato durante o metabolismo de açúcar (Capítulo 15). Nessa reação (Fig. 3-20a), C-1 é reduzi-

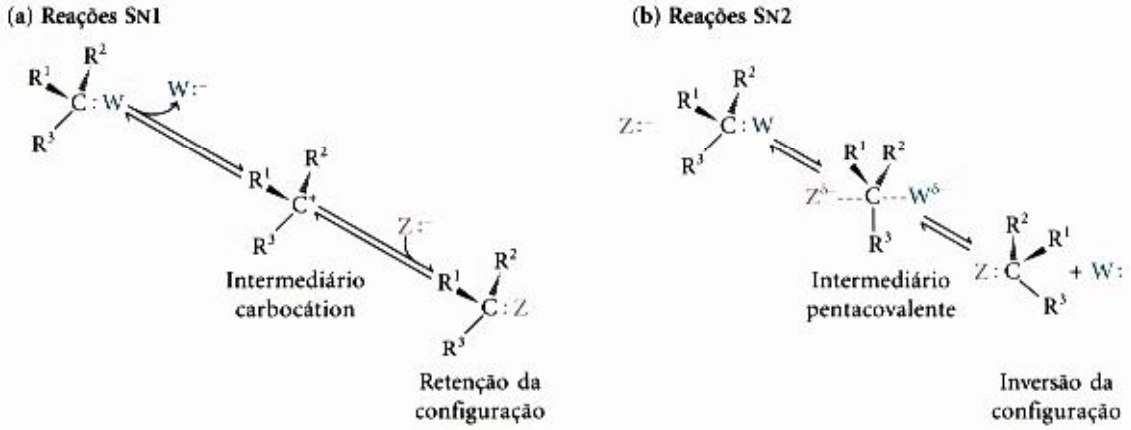


Figura 3-19 – Duas classes de reações de substituição nucleofílica. (**a**) SN1: o grupo de saída (W) parte com os elétrons da ligação, deixando um carbocátion, antes do nucleófilo atacante (Z) chegar. (**b**) SN2: o nucleófilo atacante (Z) aproxima-se de um lado do carbono eletrofílico enquanto o grupo de saída (W) permanece ligado ao outro lado, resultando em um intermediário pentacovalente. A saída de W deixa o composto substituído com uma configuração completamente invertida no átomo de carbono reagente.

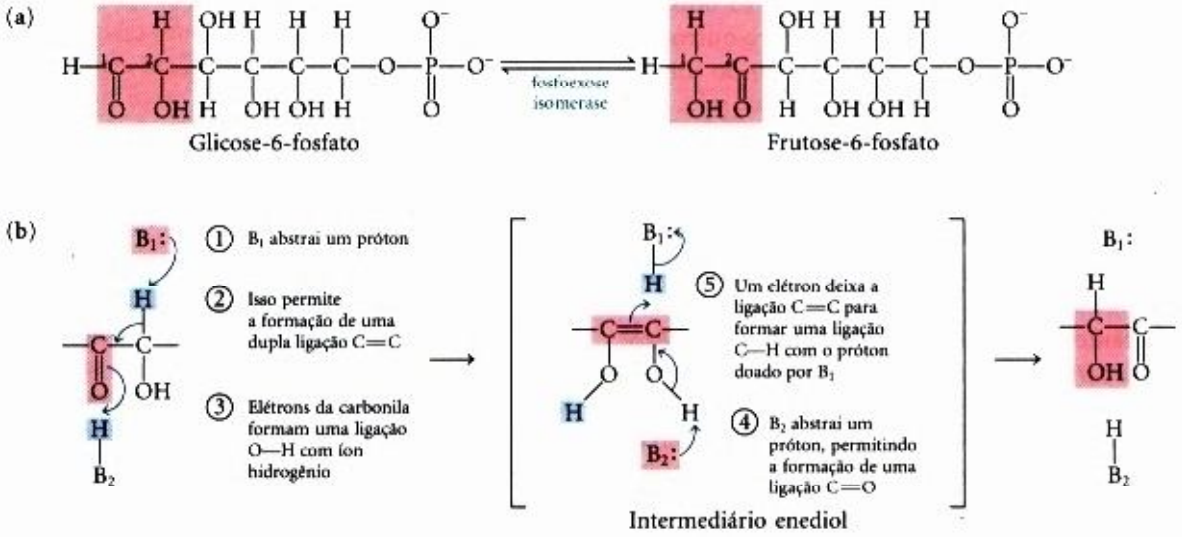


Figura 3-20 – Uma reação de isomerização. (**a**) A conversão de glicose-6-fosfato para frutose-6-fosfato, uma reação do metabolismo de açúcar catalisada pela fosfoexose isomerase. (**b**) Esta reação ocorre por meio de um intermediário enediol. A seta azul curva representa o movimento dos elétrons da ligação do nucleófilo (vermelho) para o eletrófilo (azul). B_1 e B_2 são grupos básicos da enzima; eles são capazes de doar e ceder íons hidrogênio (prótons) conforme a reação ocorre.

do (de aldeído para álcool) e C-2 é oxidado (de álcool para cetona). Na Figura 3-20b, em que se mostram os detalhes dos movimentos do elétron que resulta em isomerização, empregamos a convenção de diagramas *"electron-pushing"*, os quais serão usados para indicar os mecanismos de reação por todo o livro. Setas azuis curvas mostram o movimento dos elétrons, à medida que a reação ocorre.

Uma transposição simples de uma ligação C=C ocorre durante o metabolismo do ácido oléico, um ácido graxo (veja Fig. 17-9), e exemplos espetaculares de reposicionamento de ligações duplas serão vistos na síntese de colesterol (veja Fig. 21-35).

Reações de transferência de grupos ativam intermediários metabólicos

Em metabolismo, um tema geral e importante é a necessidade de ligação a um intermediário metabólico de um bom grupo de saída com a finalidade de "ativá-lo", para que com isso ocorra a reação subseqüente. Entre os melhores grupos de saída nas reações de substituição nucleofílicas (Tabela 3-4) estão o ortofosfato inorgânico (a forma ionizada de H_3PO_4 em pH neutro, uma mistura de $H_2PO_4^-$ e HPO_4^{2-}, comumente abreviado de P_i) e pirofosfato inorgânico ($P_2O_7^{4-}$, abreviado de PP_i). Ésteres e anidridos do ácido fosfórico têm papel central na química celular. Substituição nucleofílica na qual o grupo fosforil ($—PO_3^{2-}$) serve como um grupo de saída ocorre em centenas de reações metabólicas, isso porque essa substituição se torna mais favorável pela ligação de um grupo fosforil em vez de um grupo de saída pobre como é —OH.

Fósforo pode formar cinco ligações covalentes. A representação convencional do P_i (Fig. 3-21a) com três ligações P—O e uma ligação P=O não é correta. No P_i, as quatro ligações P—O possuem um caráter de dupla ligação, e o ânion tem uma estrutura tetraédrica (Fig. 3-21b). Como o oxigênio é mais eletronegativo que o fósforo, os elétrons não são compartilhados igualmente. O fósforo central possui uma carga positiva e pode atuar como um eletrófilo. Em um grande número de reações metabólicas, um grupo fosforil ($—PO_3^{2-}$) é transferido do ATP para um álcool (formando um éster de fosfato) (Fig. 3-21c) ou para um ácido carboxílico (formando um anidrido misto; veja Fig. 3-5). Quando um nucleófilo ataca o átomo de fósforo eletrofílico no ATP, uma estrutura pentacovalente relativamente estável é formada, como um intermediário de reação (Fig. 3-21d). Com a

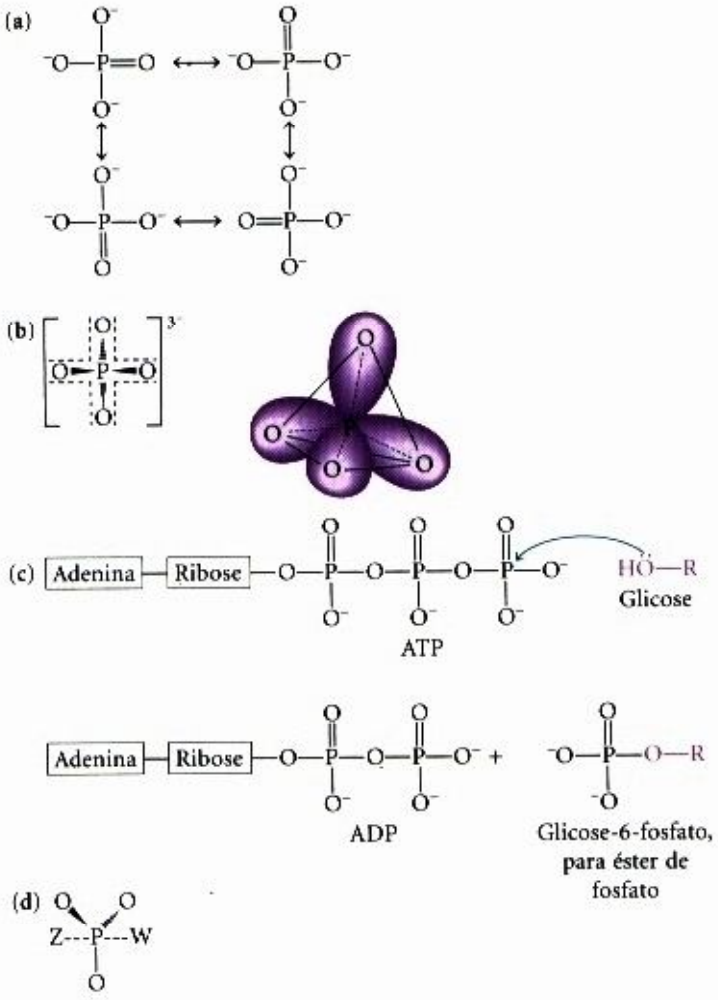


Figura 3-21 – Vias alternativas para mostrar a estrutura do ortofosfato inorgânico. (**a**) Representação não apropriada, três oxigênios são ligados ao fósforo por ligação simples e o quarto é ligado por ligação dupla, permitindo as quatro estruturas diferentes de ressonância mostradas; (**b**) as quatro estruturas de ressonância podem ser representadas com maior precisão, mostrando o caráter de dupla ligação das quatro ligações P—O. Os orbitais híbridos, assim representados, são arranjados em um tetraedro com o P em seu centro. (**c**) Quando um nucleófilo Z (neste caso, o —OH no C-6 da glicose) ataca ATP, ele desloca ADP (W). Nesta reação SN2, um intermediário pentacovalente (**d**) forma-se transitoriamente.

retirada do grupo de saída (ADP), a transferência de um grupo fosforil é completa. A grande família de enzimas que catalisa a transferência de grupos fosforil, tendo ATP como doador, é chamada de quinase (do grego *kinein*, "mover"). Hexoquinase, por exemplo, "move" um grupo fosforil do ATP para a glicose.

Grupos fosforil não são os únicos ativadores desse tipo. Tioálcoois (tióis), nos quais o átomo de oxigênio de um álcool é substituído por um átomo de enxofre, também são bons grupos de saída. Tióis ativam ácidos carboxílicos pela formação de tioésteres (ésteres de tiol) com eles (Fig. 3-5). Encontra-se um grande número de casos, incluindo-se as reações catalisadas pelas acil transferases na síntese de lipídios (veja Fig. 21-2), na qual a substituição nucleofílica do carbono da carbonila de um tioéster resulta na transferência de um grupo acil para outra metade da molécula.

Biopolímeros são formados por condensações

As subunidades monoméricas que compõem proteínas, ácidos nucléicos e polissacarídeos são ligadas por reações de deslocamento nucleofílico que substituem um bom grupo de saída. Por exemplo, a ligação de duas moléculas de aminoácidos para formar um dipeptídeo poderia ocorrer por um mecanismo simples observado na Figura 3-22a. No entanto, —OH é um grupo de saída pobre, a reação por esse mecanismo não é eficiente. Células solucionam esse problema, primeiramente, pela ligação de um grupo de saída melhor, uma molécula de RNA pequena (RNA de transferência, cerca de 75 nucleotídeos de comprimento) no grupo α-carboxil do aminoácido (ligação éster). Isso ativa o grupo carboxil para condensação com o α-amino grupo do outro aminoácido (Fig. 3-22b). Estratégias semelhantes são empregadas para a biossíntese de ácidos nucléicos e polissacarídeos.

Macromoléculas podem ser quebradas por reações de hidrólise, nas quais H_2O é o nucleófilo que ataca, deslocando uma subunidade monomérica ou um fragmento menor do polímero (Fig. 3-22c). Enzimas que catalisam hidrólise de biopolímeros (hidrolases) são essenciais no processo digestivo e servem também para regular o nível de macromoléculas críticas, como são os RNA mensageiros.

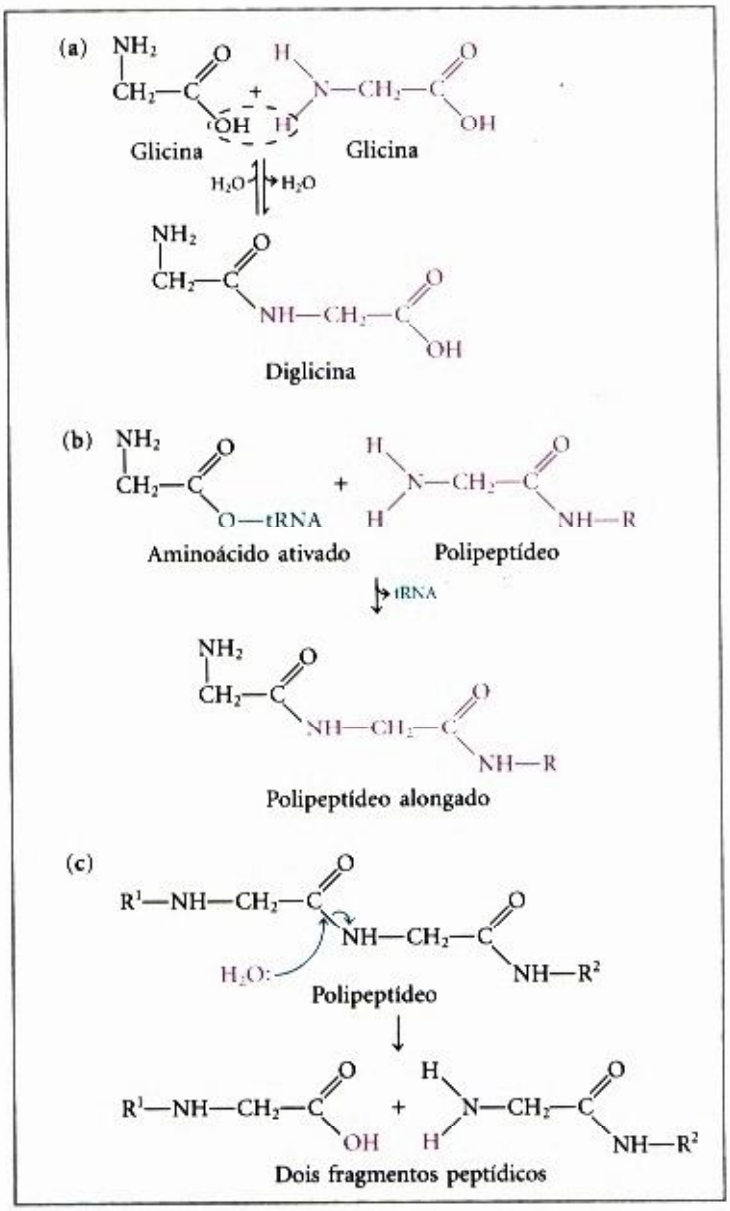


Figura 3-22 – Condensação e hidrólise. A formação e a hidrólise de uma ligação peptídica são mostradas aqui. (**a**) Remoção do elemento água de duas moléculas do aminoácido glicina produz uma ligação peptídica, mas, por não ser o grupo —OH um bom grupo de saída, essa reação não é favorável. (**b**) Nas células, aminoácidos são ativados antes da polimerização pela ligação de um grupo de saída melhor que o —OH, um RNA pequeno (RNA de transferência ou tRNA) que forma um éster de oxigênio com um grupo α-carboxil. (**c**) A hidrólise de uma ligação peptídica (mostrada aqui em um polipeptídeo) é essencialmente o reverso da reação em (**a**). H_2O faz um ataque nucleofílico no carbono da carbonila, deslocando o nitrogênio do grupo α-amino.

Macromoléculas e Suas Subunidades Monoméricas

Muitas das moléculas encontradas no interior das células são macromoléculas, polímeros de alto peso molecular construídos com precursores relativamente simples. Os polissacarídeos, as proteínas e os ácidos nucléicos, os quais podem ter pesos moleculares variando de dezenas de milhares até bilhões (como no caso do DNA), são construídos pela polimerização de subunidades relativamente pequenas, de peso molecular ao redor de 500 ou menos. A síntese das macromoléculas é uma atividade celular que pode ser classificada como forte consumidora de energia. As macromoléculas, por sua vez, podem ser arranjadas em complexos supramoleculares formando unidades funcionais como os ribossomos, que são construídos com cerca de 70 proteínas diferentes e várias moléculas de RNA diferentes.

Os principais constituintes das células são macromoléculas

A Tabela 3-5 mostra as principais classes de biomoléculas em um organismo unicelular típico, a *Escherichia coli*. A água é o composto simples mais abundante na *E. coli* e em todas as outras células e organismos. Em todos os tipos de células, quase toda a matéria sólida é substância orgânica e está presente em quatro formas principais: proteínas, ácidos nucléicos, polissacarídeos e lipídios. Os sais inorgânicos e os elementos minerais, por outro lado, constituem apenas uma fração muito pequena do peso seco total.

Tabela 3-5 – Componentes moleculares de uma célula da *E. coli*

	Porcentagem do peso total da célula	Número aproximado das diferentes espécies moleculares
Água	70	1
Proteínas	15	3.000
Ácidos nucléicos		
DNA	1	1
RNA	6	> 3.000
Polissacarídeos	3	5
Lipídios	2	20
Subunidades monoméricas e intermediários	2	500
Íons inorgânicos	1	20

As **proteínas**, longos polímeros de aminoácidos, constituem, ao lado da água, a maior fração das células. Algumas proteínas têm atividade catalítica e funcionam como enzimas, outras servem como elementos estruturais e ainda outras transportam sinais específicos (no caso dos receptores) ou substâncias específicas (no caso das proteínas de transporte) para o interior ou o exterior das células. As proteínas são talvez as mais versáteis das biomoléculas. Os **ácidos nucléicos**, DNA e RNA, são polímeros de nucleotídeos. Eles armazenam, transmitem e transcrevem a informação genética. Os **polissacarídeos**, polímeros de açúcares simples, como a glicose, têm duas funções principais: servem como armazenadores de alimentos, liberadores de energia e como elementos estruturais extracelulares. Polímeros pequenos de açúcares (oligossacarídeos) ligados a proteínas ou a lipídios na superfície celular servem como sinais celulares específicos. Entre seus inúmeros papéis, os **lipídios**, derivados oleosos dos hidrocarbonetos, servem principalmente como componentes estruturais das membranas e como forma de armazenamento de alimentos ricos em energia. Todas essas quatro classes de grandes biomoléculas são sintetizadas em reações de condensação. Nas macromoléculas (proteínas, ácidos nucléicos, polissacarídeos), o número de subunidades monoméricas é muito grande. As proteínas têm pesos moleculares que variam de 5.000 até um milhão; os ácidos nucléicos têm pesos moleculares que variam na casa dos vários milhões; os polissacarídeos, como o amido, também têm pesos moleculares na casa dos vários milhões. As moléculas lipídicas individuais são muito menores (M_r 750 a 1.500) e não são classificadas como macromoléculas. Entretanto, quando um grande número de moléculas lipídicas se associa não-covalentemente, resulta em estruturas muito grandes. As membranas celulares são construídas por enormes agregados que contêm milhões de moléculas de lipídios.

As macromoléculas são construídas com subunidades monoméricas

Embora os organismos vivos contenham um número muito grande de proteínas e de ácidos nucléicos diferentes, uma simplicidade fundamental está na base das suas estruturas (Capítulo 1). As subunidades monoméricas simples, com as quais todas as proteínas e todos os ácidos nucléicos são construídos, são em número pequeno e idênticas em todas as espécies. As proteínas e os ácidos nucléicos são as duas **macromoléculas informacionais**: cada proteína e cada ácido nucléico têm uma seqüência de subunidades característica e rica em informação (Fig. 3-23).

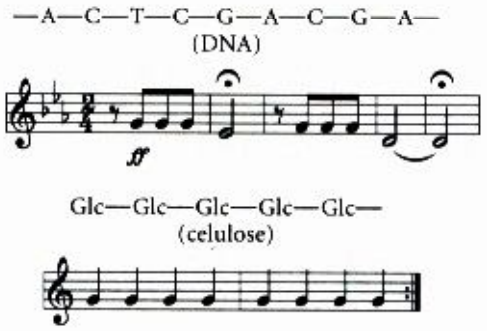


Figura 3-23 – Macromoléculas informacionais e estruturais. As letras A, T, C e G representam os quatro desoxirribonucleotídeos do DNA, e glicose (Glc) é a subunidade monomérica repetitiva do amido e da celulose. O número de combinações possíveis dos quatro desoxirribonucleotídeos é virtualmente ilimitado, como o número de melodias possíveis de serem compostas com um pequeno número de notas musicais. Um polímero de um único tipo de subunidade é monótono e pobre em informação.

Os polissacarídeos construídos apenas com um tipo de unidade ou de duas unidades diferentes e alternadas não são moléculas informacionais no mesmo sentido em que o são as proteínas e os ácidos nucléicos, entretanto os polissacarídeos complexos feitos de seis ou mais tipos diferentes de açúcares, ligados em cadeias ramificadas, têm as variedades estruturais e estereoquímicas capazes de habilitá-los a transportar informações reconhecíveis por outras macromoléculas.

As subunidades monoméricas têm estruturas simples

A Figura 3-24 mostra as estruturas de algumas unidades monoméricas das biomoléculas grandes arranjadas em famílias. Vinte aminoácidos diferentes são encontrados nas proteínas, todos têm um grupo amino (um grupo imino no caso da prolina) e um grupo carboxila ligado ao átomo de carbono, designado de carbono α. Esses α-aminoácidos diferem uns dos outros somente pela cadeia lateral (Fig. 3-24a).

As unidades estruturais recorrentes de todos os ácidos nucléicos são oito nucleotídeos diferentes; quatro tipos de nucleotídeos são unidades estruturais do DNA, e os outros quatro são unidades do RNA (Fig. 3-24b). Cada nucleotídeo é feito de três componentes: (1) uma base orgânica nitrogenada; (2) um açúcar de cinco átomos de carbono e (3) fosfato. Os oito nucleotídeos diferentes do DNA e do RNA são construídos a partir de cinco bases orgânicas diferentes combinadas com dois açúcares diferentes.

Os lipídios são construídos a partir de relativamente poucos tipos de subunidades. A maioria das moléculas lipídicas contém um ou mais ácidos graxos de cadeia longa, dos quais o palmitato e o oleato são os compostos típicos (Fig. 3-24c). Muitos lipídios também contêm um álcool, por exemplo, o glicerol, e alguns contêm fosfato.

Os polissacarídeos mais abundantes da natureza, amido e celulose, consistem de unidades repetidas de D-glicose (Fig. 3-24d). Outros polissacarídeos são compostos de uma variedade de moléculas de açúcares derivados de glicose.

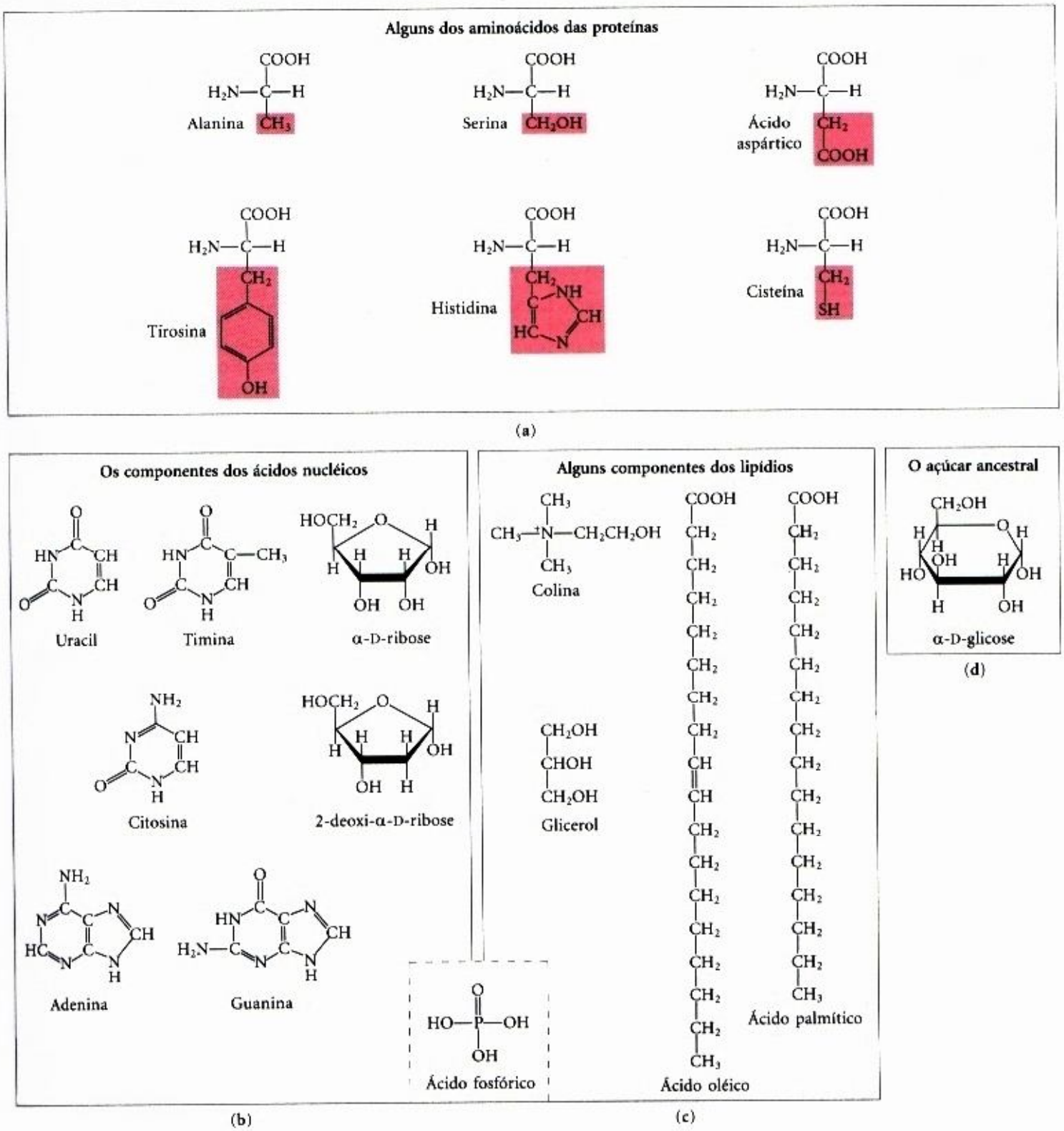


Figura 3-24 – Os compostos orgânicos a partir dos quais estruturas celulares muito maiores são construídas: o alfabeto da bioquímica. Aqui são mostrados (**a**) seis dos 20 aminoácidos com os quais as proteínas de todos os organismos são construídas (as cadeias laterais estão sombreadas em vermelho); (**b**) as cinco bases nitrogenadas, dois açúcares com cinco átomos de carbono cada um e o ácido fosfórico, a partir desses compostos são formados todos os ácidos nucléicos; (**c**) cinco compostos encontrados em muitos dos lipídios de membranas e (**d**) α-D-glicose, a maioria dos carboidratos são derivados da molécula desse açúcar. Note que o ácido fosfórico é uma subunidade componente de ambos, ácidos nucléicos e lipídios de membranas. Todos os compostos estão representados na sua forma não-ionizada.

Assim, apenas umas três dúzias de compostos orgânicos diferentes são os progenitores da maioria das biomoléculas. Cada um dos compostos na Figura 3-24 tem uma função múltipla nos organismos vivos (Fig. 3-25). Os aminoácidos não são apenas as subunidades monoméricas das proteínas; alguns agem como neurotransmissores e como precursores de hormônios e toxinas. A adenina serve tanto como subunidade na estrutura dos ácidos nucléicos e do ATP, como neurotransmissora. Os ácidos graxos servem como componentes de membranas lipídicas complexas, como gorduras ricas em energia e que funcionam como reserva de alimentos e também como precursores de um grupo de moléculas sinalizadoras potentes, os eicosanóides. D-glicose é a subunidade monomérica do amido e da celulose e também é o precursor de outros açúcares como a D-manose e a sacarose.

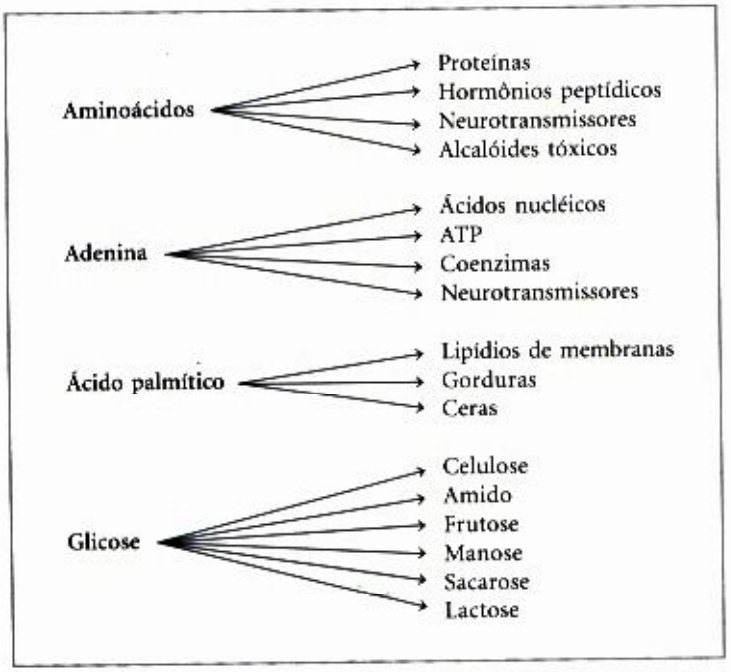
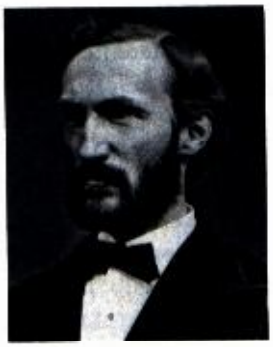


Figura 3-25 – Cada composto simples na Figura 3-24 é um precursor de muitos outros tipos de biomoléculas.

A condensação entre as subunidades cria ordem e requer energia

É extremamente improvável que os aminoácidos em uma mistura venham a se condensar espontaneamente em uma proteína com uma seqüência única. Essa condensação de moléculas pequenas em uma macromolécula representaria um aumento na organização do sistema, no caso "uma população de moléculas", o que não estaria de acordo com a segunda lei da termodinâmica (Capítulo 14) que afirma a tendência dos processos químicos e físicos ocorrerem no universo em direção a um aumento da desordem. É, portanto, necessário fornecer energia livre ao sistema (a célula), para conduzir a síntese de macromoléculas a partir de suas subunidades monoméricas (Capítulo 1).

A desordem dos componentes de um sistema químico é expressa como a **entropia**, simbolizada por *S*. Qualquer mudança na desordem do sistema é uma variação na entropia, ΔS, que tem um valor positivo quando a desordem aumenta. Quem desenvolveu a teoria das variações energéticas durante as reações químicas foi J. Willard Gibbs; ele mostrou que o conteúdo de energia livre (*G*) de qualquer sistema isolado pode ser definido em termos de três quantidades: a entalpia (*H*) que reflete o tipo e o número de ligações envolvidas (veja pág. 50); a entropia (*S*); e *T*, a temperatura absoluta (Kelvin). A definição de energia livre



J. Willard Gibbs
(1839-1903)

é: $G = H - TS$. Assim, quando uma reação química ocorre à temperatura constante, a variação da energia livre é determinada por ΔH, refletindo os tipos e o número de ligações químicas em interações não-covalentes, quebradas e formadas, e por ΔS, a mudança na desordem do sistema:

$$\Delta G = \Delta H - T\,\Delta S$$

No Capítulo 1 vimos que um processo tende a ocorrer espontaneamente apenas quando ΔG é negativo. Além disso, células dependem de muitas moléculas, tais como proteínas e ácidos nucléicos, para as quais energia livre de formação é positiva: elas são menos estáveis e mais ordenadas do que uma mistura de seus componentes monoméricos. Para superar o déficit de energia livre de reações termodinamicamente desfavoráveis (endergônicas), células acoplam essas reações a outras reações que liberam energia livre (reações exergônicas), de maneira que todo o processo seja exergônico: a soma das variações de energia livre é negativa. A fonte usual de energia livre em reações biológicas acopladas é a energia liberada pela hidrólise de ligações do anidrido do ácido fosfórico (fosfoanidrido), como aquelas que conectam grupos fosfato (representados como Ⓟ) no ATP:

Aminoácidos ⟶ polímero	ΔG_1 é positiva (endergônica)
—Ⓟ—Ⓟ ⟶ Ⓟ + Ⓟ	ΔG_2 é negativa (exergônica)

Quando essas reações são acopladas, a soma de ΔG_1 e ΔG_2 é negativa (o processo global é exergônico). Por meio dessa estratégia, células são capazes de sintetizar e manter polímeros ricos em informação (DNA, RNA e proteína) e essenciais à vida.

A estrutura celular é hierarquizada

As subunidades monoméricas na Figura 3-24 são muito pequenas, quando comparadas com as macromoléculas biológicas. Uma molécula de um aminoácido, tal como a alanina, tem menos de 0,5nm de comprimento. A hemoglobina, proteína transportadora de oxigênio nos eritrócitos, consiste de aproximadamente 600 aminoácidos ligados covalentemente em quatro longas cadeias, estas são enroladas em formas globulares e associadas em uma estrutura tetramérica, com um diâmetro de 5,5nm. As moléculas de proteínas por sua vez são pequenas, quando comparadas com os ribossomos (perto de 20nm de diâmetro); cada um dos quais contém mais ou menos 70 proteínas diferentes e várias moléculas diferentes de RNA. Os ribossomos, por sua vez, são muito menores do que as organelas, como as mitocôndrias, por exemplo, as quais têm, tipicamente, 1.000nm de diâmetro. É longo o salto entre uma única biomolécula e as grandes estruturas celulares que podem ser vistas ao microscópio óptico. A Figura 3-26 ilustra a hierarquia estrutural da organização celular.

Nas proteínas, ácidos nucléicos e polissacarídeos, as subunidades monoméricas individuais estão ligadas por ligações covalentes. Em contraste, nos complexos supramoleculares, as

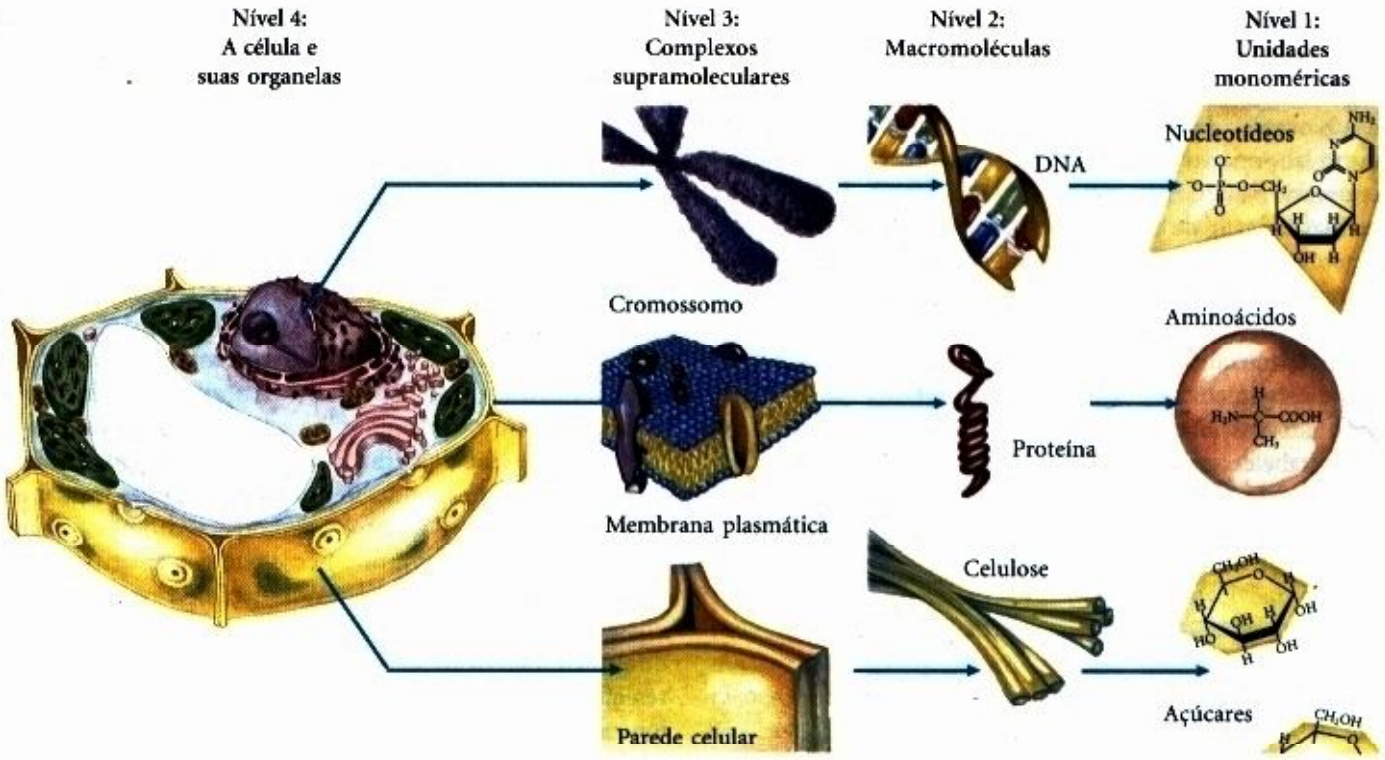


Figura 3-26 – A hierarquia estrutural na organização molecular das células. O núcleo desta célula vegetal, por exemplo, contém vários tipos de complexos supramoleculares, incluindo os cromossomos. Os cromossomos constituem-se de macromoléculas — DNA e muitas proteínas diferentes. Cada tipo de macromolécula é construído de subunidades simples — DNA, por exemplo, a partir de desoxirribonucleotídeos.

numerosas e diferentes macromoléculas são mantidas unidas por interações não-covalentes — individualmente muito mais fracas do que as ligações covalentes. Entre estas estão as pontes de hidrogênio (entre grupos polares), interações iônicas (entre grupos carregados), interações hidrofóbicas (entre grupos não-polares em soluções aquosas) e interações de van der Waals, todas as quais têm energia de apenas poucos quilojoules (kJ), comparadas com as ligações covalentes as quais têm energia de 200 a 900kJ/mol (Tabela 3-3). A natureza dessas interações não-covalentes será discutida no próximo capítulo. Nos complexos supramoleculares, o grande número de interações fracas entre as macromoléculas estabiliza as estruturas não-covalentes finais, produzindo sua estrutura "nativa" única.

Embora as subunidades monoméricas das macromoléculas sejam muito menores que as células e as organelas, elas influenciam a forma e a função dessas estruturas muito maiores. Na anemia falciforme, uma doença humana hereditária, a molécula da hemoglobina é defeituosa. Um resíduo de ácido glutâmico ocorre na posição 6 nas duas cadeias β da hemoglobina de indivíduos normais. Nas pessoas com anemia falciforme, nessa posição ocorre um resíduo de valina. Essa simples diferença na seqüência de 146 aminoácidos da cadeia β afeta apenas uma pequena porção da molécula, como será explicado no Capítulo 7. Entretanto ela é responsável por um defeito tal nessa molécula de hemoglobina, que esta forma grandes agregados no interior dos eritrócitos, os quais, por isso, deformam-se (falcizam-se) e funcionam anormalmente.

Evolução Pré-Biótica

O fato de todas as macromoléculas biológicas serem construídas com as mesmas três dúzias de subunidades torna provável que todos os organismos vivos descendam de uma única linhagem celular primordial, cuja química fundamental seria reconhecida até mesmo hoje. Além disso, esses compostos orgânicos primordiais devem ter sido adaptativamente selecionados de forma que sistemas celulares foram refinados para desempenhar as transformações energéticas e de auto-replicação, que são características das células vivas.

As primeiras biomoléculas apareceram por evolução química

Agora chegamos a um problema do tipo quebra-cabeças: além da sua presença nos organismos vivos, os compostos orgânicos, incluindo as biomoléculas básicas, ocorrem apenas em pequeníssimas quantidades na crosta terrestre, isto é, nos continentes, nos mares e na atmosfera. Como foi possível aos primeiros organismos vivos adquirirem seus componentes orgânicos básicos? Em 1922, o bioquímico Alexander I. Oparin propôs a teoria da origem precoce da vida na história da Terra, postulando que a atmosfera foi, naquele tempo, muito diferente da que existe hoje. Rica em metano, amônia, água e essencialmente destituída de oxigênio, ela era uma atmosfera redutora, muito diferente do ambiente oxidante dos tempos atuais. Na teoria de Oparin, a energia elétrica das descargas dos relâmpagos, ou a energia calorífica dos vulcões, fez com que a amônia, o metano, o vapor d'água e outros componentes da atmosfera primitiva reagissem formando compostos orgânicos simples. Esses compostos se dissolveram então nos mares antigos, os quais, ao longo de muitos milênios, tornaram-se enriquecidos com uma grande variedade de compostos orgânicos simples. Nessa solução quente ("sopa pré-biótica" ou "sopa primordial"), algumas moléculas orgânicas tiveram tendência maior que outras para se associarem em grandes compostos, os quais, por milhões de anos de evolução, por sua vez, associaram-se a membranas e catalisadores (enzimas), os quais vieram juntar-se uns aos outros para tornarem-se precursores das células primitivas. Por muitos anos, as opiniões de Oparin permaneceram como especulações não testadas e impossíveis de assim o serem, até que um experimento surpreendente foi realizado usando equipamento simples.

A evolução química pode ser simulada no laboratório

Um experimento clássico sobre a origem abiótica (não-biológica) das biomoléculas foi desenvolvido, em 1953, por Stanley Miller no laboratório de Harold Urey. Miller submeteu misturas gasosas de NH_3, CH_4, vapor d'água e H_2 a centelhas elétricas produzidas a partir de um par de elétrodos (simulação de relâmpagos) por períodos de uma semana ou mais (Fig. 3-27), e então analisou o conteúdo do frasco de reação. A fase gasosa da mistura resultante continha CO e CO_2, bem como os compostos químicos iniciais. A fase aquosa continha uma variedade de compostos orgânicos que incluiam alguns aminoácidos, hidroxiácidos, aldeídos, álcoois e ácido cianídrico (HCN). Esse experimento estabeleceu a possibilidade da produção abiótica de biomoléculas em tempos relativamente curtos e em condições relativamente suaves.

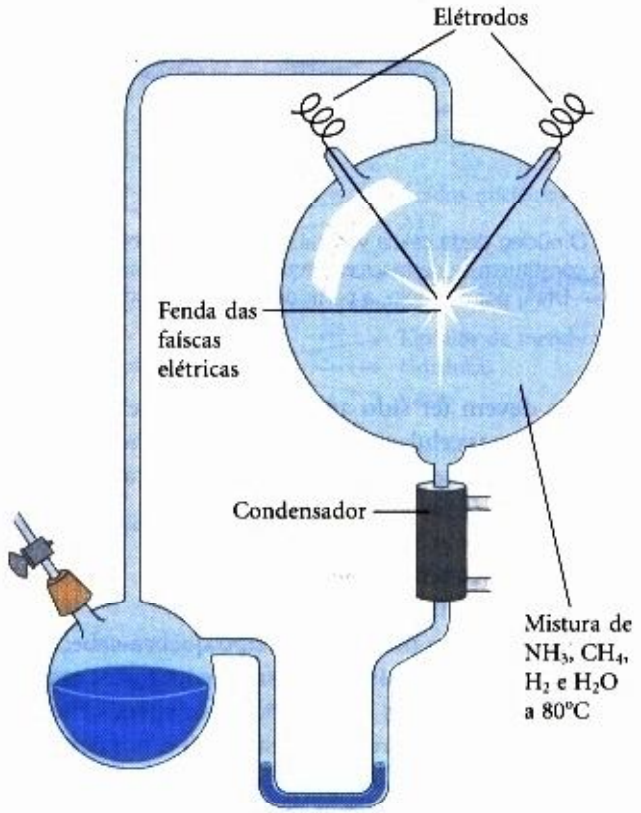


Figura 3-27 – Aparelho de descargas elétricas empregado por Miller e Urey em experiências que demonstram a formação abiótica de compostos orgânicos, sob as possíveis condições atmosféricas da Terra primitiva. Depois de submeter o conteúdo do sistema gasoso contido no aparelho a descargas elétricas, os produtos foram separados por condensação. Algumas biomoléculas, aminoácidos por exemplo, estavam entre esses produtos (veja Tabela 3-6).

Vários melhoramentos permitiram repetir os experimentos de Miller e Urey de forma mais refinada, o que tem produzido evidências muito fortes de que uma larga variedade de biomoléculas, incluindo proteínas e ácidos nucléicos, podem ter sido produzidas espontaneamente a partir de materiais que estavam, provavelmente, presentes na Terra no tempo em que a vida apareceu.

Continuações recentes dos experimentos de Miller empregaram "atmosferas" que incluem CO_2 e HCN e tecnologias melhoradas de identificação de diminutas quantidades de produtos. Assim, a formação de centenas de compostos orgânicos pode ser demonstrada (Tabela 3-6). Esses compostos incluem os aminoácidos comuns, uma grande variedade de ácidos mono, di e tricarboxílicos, ácidos graxos, adenina e formaldeído. Em certas condições, o formaldeído polimeriza-se para formar açúcares que contêm três, quatro, cinco ou seis átomos de carbono. Em adição aos muitos monômeros que se formam nesses experimentos, aparecem também polímeros de nucleotídeos (ácidos nucléicos) e aminoácidos (proteínas). Alguns dos produtos de autocondensação do ácido cianídrico também são promotores efetivos dessas reações de polimerização, e várias espécies iônicas presentes na superfície da Terra (Cu^{2+}, Ni^{2+}, Zn^{2+}) também aumentam a velocidade de polimerização. As fontes efetivas de energia para a formação desses compostos incluem calor, luz visível e ultravioleta, raios X, radiação gama, ultra-som e ondas de choque mecânico, além de bombardeamento com partículas alfa e beta.

Sucintamente, experimentos laboratoriais sobre a formação espontânea de biomoléculas em condições pré-bióticas forneceram boa evidência de que muitos componentes químicos das células vivas, incluindo polipeptídeos e RNA, podem-se formar nessas condições. Pequenos polímeros de RNA podem agir como catalisadores em reações biologicamente significativas (Capítulo 26), e é razoável que o RNA tenha desempenhado um papel crucial na evolução pré-biótica, tanto como catalisador, como repositório de informação.

Se a vida na Terra progrediu através desse processo de evolução química, é provável que vida tenha surgido também em planetas de outros sistemas solares. Muitos compostos pré-bióticos, tais como HCN, ácido fórmico, cianoacetileno, foram encontrados em cometas, nas atmosferas de Júpiter, Saturno e Titã (a lua de Saturno) e na poeira cósmica do espaço interestelar. Análises do meteorito Murchison, que caiu na Terra em 1969, revelou a presença de aminoácidos, hidroxiácidos, purinas e pirimidinas. É concebível, portanto, que os precursores orgânicos, para a evolução da vida na Terra, originaram-se de algum lugar do sistema solar.

Tabela 3-6 – Alguns dos produtos formados em condições pré-bióticas

Ácidos carboxílicos	Bases dos ácidos nucléicos	Aminoácidos	Açúcares
Ácido fórmico	Adenina	Glicina	Pentoses e hexoses lineares e ramificadas
Ácido acético	Guanina	Alanina	
Ácido propiônico	Xantina	Ácido α-aminobutírico	
Ácidos graxos (C_4—C_{10}) lineares e ramificados	Hipoxantina	Valina	
Ácido glicólico	Citosina	Leucina	
Ácido láctico	Uracina	Isoleucina	
Ácido succínico		Prolina	
		Ácido aspártico	
		Ácido glutâmico	
		Serina	
		Treonina	

Fonte: Retirado de Miller SL. (1987) Which organic compounds could have occurred on the prebiotic earth? *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **52**, 17-27.

As moléculas de RNA podem ter sido os primeiros genes e catalisadores

Nos organismos atuais, os ácidos nucléicos codificam a informação genética que especifica a estrutura das enzimas, e as enzimas têm a capacidade de catalisar a replicação e a reparação dos ácidos nucléicos. A dependência mútua dessas duas classes de biomoléculas coloca a questão: o que veio primeiro, o DNA ou a proteína?

A resposta pode ser: nenhum dos dois. A descoberta de que as moléculas de RNA podem agir como catalisadoras em sua própria formação sugere que o RNA pode ter sido o primeiro gene *e* o primeiro catalisador. De acordo com esse cenário (Fig. 3-28), um dos primeiros estágios da evolução biológica foi a formação por acaso, na sopa primordial, de uma molécula de RNA que tinha a capacidade de catalisar a formação de outras moléculas de RNA com a mesma seqüência — um RNA autoduplicador e autoperpetuador. A concentração de uma molécula de RNA automultiplicadora deveria aumentar exponencialmente, pois uma molécula formaria duas, duas formariam quatro, e assim sucessivamente. A fidelidade dessa auto-replicação era, presumivelmente, tão perfeita, que o processo geraria muitas variantes de RNA, algumas das quais poderiam ser auto-replicadoras ainda melhores. Na competição pelos nucleotídeos, venceriam as seqüências mais eficientes em autoduplicar-se, e os autoduplicadores menos eficientes desapareceriam da população.

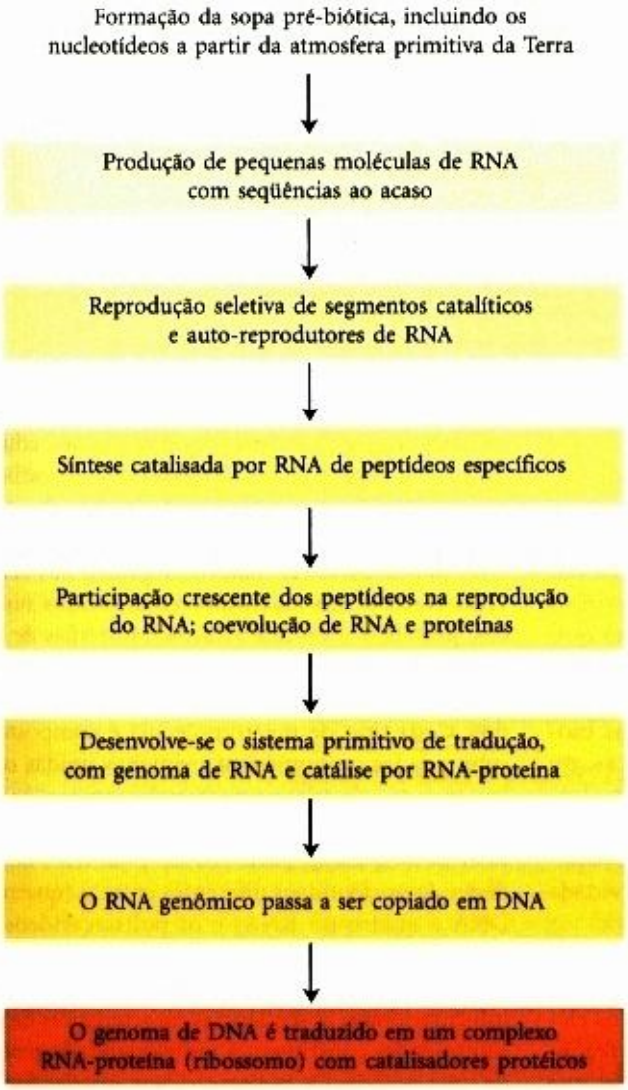


Figura 3-28 – Descrição de uma das possibilidades para o desenrolar do "drama da vida" segundo a hipótese do "mundo do RNA" e a transição deste (sombreado em amarelo) para o "mundo do DNA" (em alaranjado).

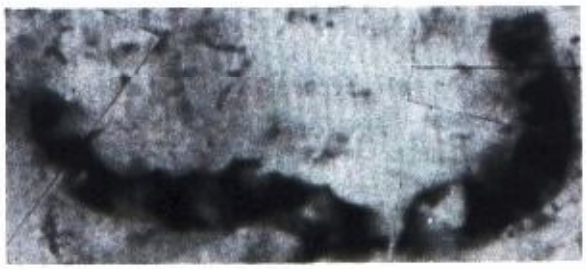
A divisão de funções entre DNA (armazenamento da informação genética) e proteínas (catálise) foi, de acordo com a hipótese do "mundo do RNA", um desenvolvimento posterior. Variantes novas e moléculas de RNA autoduplicadoras desenvolveram-se com a capacidade adicional de catalisar a condensação de aminoácidos em peptídeos. Ocasionalmente, o peptídeo (ou peptídeos), assim formado, reforçaria a capacidade autoduplicadora do RNA, e o par — molécula de RNA e peptídeo ajudante — pôde sofrer modificações posteriores, gerando sistemas replicadores ainda mais eficientes. Algum tempo depois da evolução desse sistema primitivo de síntese de proteína, ocorreu um desenvolvimento posterior: as moléculas de DNA com seqüências complementares ao RNA autoreplicador tomaram para si a função de conservar a informação genética e as moléculas do RNA evoluíram para desempenhar papéis na biossíntese de proteínas. As proteínas provaram ser catalisadores muito versáteis e com o tempo assumiram essa função. Compostos semelhantes a lipídios, na sopa primordial, formaram camadas relativamente impermeáveis que envolviam coleções de moléculas autoduplicadoras. A concentração de proteínas e ácidos nucléicos no interior desses envelopes lipídicos favoreceu as interações moleculares necessárias na autoduplicação.

Essa hipótese do "mundo do RNA" é plausível, mas de nenhuma forma universalmente aceita. Essa hipótese faz previsões que são verificáveis, e ela será testada e refinada na medida em que os testes experimentais se tornarem passíveis de ser realizados dentro de tempos relativamente curtos, quer dizer, tempos menores ou, pelo menos, iguais ao tempo de expectativa de vida de um cientista.

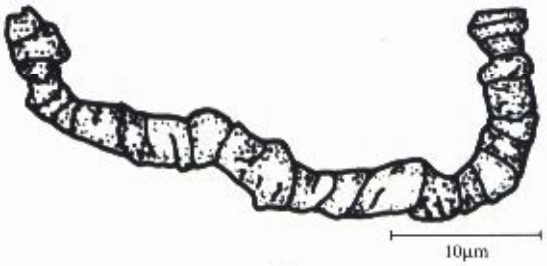
A evolução biológica começou há mais de três e meio bilhões de anos

Junto com o Sol e os demais planetas do nosso sistema, a Terra formou-se cerca de quatro e meio bilhões de anos atrás, e a primeira evidência definitiva de vida data de três e meio bilhões de anos atrás. Um grupo internacional de cientistas mostrou, em 1980, que certas formações rochosas muito antigas (estromatólitos; Fig. 3-29), que ocorrem na Austrália Ocidental, contêm fósseis de microrganismos primitivos. Em 1996, cientistas que trabalhavam na Groenlândia encontraram evidências químicas (não fósseis) da existência de vida há cerca de 4 bilhões de anos, formas de carbono incrustadas em rocha que aparentam ter uma origem biológica distinta. Em algum lugar da Terra, durante o primeiro período de um bilhão de anos, nasceu o primeiro organismo simples, capaz de reproduzir a sua própria estrutura a partir de um molde (RNA?) que foi o primeiro material genético. Devido à atmosfera terrestre, na aurora da vida, ser desprovida de oxigênio e já que havia poucos microrganismos para consumir os compostos orgânicos formados por processos naturais, esses compostos eram relativamente estáveis. Dados essa estabilidade e períodos de tempo muitíssimo longos, o improvável tornou-se inevitável: os compostos orgânicos foram incorporados em células para produzir mais e mais catalisadores efetivamente capazes de se auto-reproduzir. Assim começou o processo da evolução biológica. Os organismos desenvolveram mecanismos para atrelar a energia do Sol, por meio da fotossíntese, aos processos de síntese de açúcares e outras moléculas orgânicas a partir do CO_2 e converter o nitrogênio molecular da atmosfera em moléculas nitrogenadas, como os aminoácidos. Desenvolvendo suas próprias capacidades para a síntese de biomoléculas, as células tornaram-se independentes dos processos casuais pelos quais esses compostos primeiro apareceram na face da Terra. À medida que a evolução prosseguia, os organismos começaram a interagir e a tirar benefícios mútuos, formando sistemas ecológicos cada vez mais complexos.

(a)



(b)



(c)

Figura 3-29 – Recifes muito antigos da costa australiana contêm a evidência fóssil da vida microbiana nos mares de 3,5 bilhões de anos atrás. A continua retenção de grânulos de areia e calcário pelo revestimento extracelular pegajoso de cianobactérias construiu, paulatinamente, esses estromatólitos encontrados em Hamelin Bay, na Austrália Ocidental (**a**). O exame microscópico de secções finas dos estromatólitos revela microfósseis de bactérias filamentosas (**b**). Estas são interpretadas como mostra o desenho (**c**).

Resumo

A maior parte do peso seco dos organismos vivos consiste de compostos orgânicos, moléculas que contêm esqueletos ou estruturas de átomos de carbono ligados covalentemente entre si, aos quais outros átomos de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio podem ser ligados. Aos esqueletos carbônicos são ligados diferentes tipos de grupos funcionais, o que determina as propriedades químicas das moléculas orgânicas. As biomoléculas também têm formas características (configurações e conformações) em três dimensões. Muitas biomoléculas ocorrem em formas assimétricas, ou quirais, chamadas de enantiômeros e estereoisômeros, as quais são imagens especulares e que não se subrepõem umas às outras. Usualmente, apenas um dos enantiômeros do par tem atividade biológica.

As forças das ligações químicas covalentes, medidas em joules, dependem da eletronegatividade e do tamanho dos átomos que compartilham os elétrons. A variação da entalpia (ΔH) para uma reação química reflete o número e o tipo de ligações que são quebradas ou sintetizadas. Para as reações endotérmicas, ΔH é positivo, para as reações exotérmicas, negativo. As diferentes reações químicas que ocorrem no interior de uma célula pertencem a cinco categorias gerais: reações de oxidação-redução, quebra ou formação de ligações carbono-carbono, rearranjo de ligações ao redor de átomos de carbono, transferência de grupos e condensações.

A maior parte da matéria orgânica nas células vivas consiste em macromoléculas: ácidos nucléicos, proteínas e polissacarídeos. Moléculas de lipídio, outro componente importante das células, são moléculas pequenas que formam grandes agregados. Cada tipo de macromolécula é composto de subunidades monoméricas pequenas unidas covalentemente e de relativamente poucos tipos. As proteínas são polímeros de 20 tipos diferentes de aminoácidos, os ácidos nucléicos são polímeros de unidades de nucleotídeos diferentes entre si (quatro no DNA e quatro no RNA) e os polissacarídeos são polímeros de unidades recorrentes de açúcares. Os ácidos nucléicos e as proteínas são macromoléculas informacionais; as seqüências características de suas subunidades constituem a individualidade genética de uma espécie. Os polissacarídeos simples funcionam como componentes estruturais, mas alguns polissacarídeos complexos também são macromoléculas informacionais, sua seqüência específica e es-

tereoquímica permite que sejam reconhecidos por outras moléculas com alta especificidade.

Há uma hierarquia estrutural na organização molecular das células. As células contêm organelas tais como o núcleo, as mitocôndrias e os cloroplastos, os quais, por sua vez, contêm complexos supramoleculares como as membranas e os ribossomos, e estes consistem, por sua vez, de um grande número de macromoléculas que são mantidas unidas por forças não-covalentes relativamente fracas, porém numerosas. As macromoléculas consistem de subunidades unidas covalentemente. A formação de macromoléculas a partir de subunidades simples cria ordem ou organização (diminui a entropia); essa síntese requer energia e, portanto, precisa ser acoplada a reações exergônicas.

As biomoléculas pequenas, como os aminoácidos e os açúcares, apareceram, provavelmente, espontaneamente a partir de gases atmosféricos e da água sob a influência de energia elétrica (relâmpagos), durante a primitiva história da Terra. Esse processo chamado de evolução química pode ser simulado no laboratório. As subunidades monoméricas das macromoléculas celulares parecem ter sido selecionadas durante a evolução biológica. Essas moléculas que funcionam como subunidades são em número relativamente pequeno, mas elas são muito versáteis; a evolução combinou pequenas biomoléculas para produzir macromoléculas capazes de diferentes funções biológicas. As primeiras macromoléculas podem ter sido moléculas de RNA, que eram capazes de catalisar a sua própria replicação. Posteriormente, na evolução, o DNA assumiu a função de armazenar a informação genética, as proteínas tornaram-se os catalisadores celulares e o RNA o mediador entre o DNA e a proteína, permitindo a expressão da informação genética como proteínas.

Leitura Adicional

Geral

Frausto da Silva JJR & Williams RJP. (1994) *The Biological Chemistry of the Elements: The Inorganic Chemistry of Life*, Claredon Press, Oxford.

Um texto excelente e de fácil entendimento sobre o papel dos elementos inorgânicos na bioquímica. Diagramas claros e referências boas.

Frieden E. (1972) The chemical elements of life. *Sci. Am.* 227 (July), 52-61.

The Molecules of Life. (1985) *Sci. Am.* 253 (October).

Todo um volume dedicado à estrutura e função das biomoléculas. Inclui artigos sobre o DNA, o RNA, proteínas e suas subunidades.

Química e estereoquímica

Barta NS & Stille JR. (1994) Grasping the concepts of stereochemistry. *J. Chem. Educ.* 71, 20-23.

Uma descrição clara do sistema RS para nomear os estereoisômeros, com sugestões práticas para determinar e relembrar o "lado preferencial" (esquerdo ou direito) de isômeros.

Brewster JH. (1986) Stereochemistry and the origins of life. *J. Chem. Educ.* 63, 667-670.

Uma discussão lúcida e interessante dos caminhos pelos quais a evolução selecionou apenas um dos dois estereoisômeros para a construção de proteínas e outras moléculas.

Hegstrom RA & Kondepudi DK. (1990) The handedness of the universe. *Sci. Am.* 262 (January), 108-115.

Estereoquímica e assimetria das biomoléculas vistas no contexto do Universo.

Kotz JC & Treichel P Jr. (1998) *Chemistry and Chemical Reactivity*, Saunders College Publishing, Fort Worth, TX.

Uma introdução excelente e ampla sobre a química.

Loudon M. (1995) *Organic Chemistry*, 3rd edn, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Menlo Park, CA.

Este e os dois livros a seguir fornecem detalhes sobre a estereoquímica e a reatividade química dos grupos funcionais. Todos eles são excelentes livros-texto.

Morrison RT & Boyd RN. (1999) *Organic Chemistry*, 7th edn, Allyn & Bacon, Inc., Boston, MA.

Streitwieser A Jr, Heathcock CH & Kosower EM. (1998) *Introduction to Organic Chemistry*, 4th edn, revised printing, Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ.

Wagner G. (1997) An account of NMR in structural biology, *Nature Struct. Biol.*, NMR Suppl. (October), 841-844.

Uma avaliação clara e concisa do desenvolvimento do NMR como uma ferramenta bioquímica, aplicações correntes e perspectivas futuras.

Evolução pré-biótica

Cavalier-Smith T. (1987) The origin of cells: a symbiosis between genes, catalysts, and membranes. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 52, 805-824.

Darnell JE & Doolittle WF. (1986) Speculations on the early course of evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 1271-1275.

Uma descrição clara do "mundo do RNA" e suas possibilidades.

de Duve C. (1995) The beginnings of life on earth. *Am. Sci.* 83, 428-437.

Um cenário para a sucessão das etapas químicas que levaram ao primeiro organismo vivo.

Evolution of Catalytic Function. (1987) *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 52.

Uma coleção de quase cem artigos sobre todos os aspectos da evolução pré-biótica e do início da evolução biológica; provavelmente a melhor fonte singular sobre a evolução molecular.

Ferris JP. (1984) The chemistry of the life's origin. *Chem. Eng. News* 62, 21-35.

Uma descrição clara e concisa das evidências experimentais da síntese de biomoléculas em condições prébióticas.

Gesteland RF & Atkins JF (eds). (1993) *The RNA World*, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, NY.

Uma coleção de revisões estimulantes sobre uma variedade de tópicos relacionados ao cenário do mundo do RNA.

Hager AJ, Pollard JD & Szostak JW. (1996) Ribozymes: aiming at RNA replication and protein synthesis. *Chem. Biol.* 3, 717-725.

Uma revisão concisa dos estudos sobre o RNA como o catalisador da síntese de RNA e da síntese da ligação amida e a relevância desses achados para o cenário do mundo do RNA.

Hirao I & Ellington AD. (1995) Re-creating the RNA world. *Curr. Biol.* 5, 1017-1022.

Este e o artigo de Robertson e Ellington (1997), citado adiante, descrevem uma pesquisa que objetiva a reprodução no laboratório da origem evolucionária do RNA catalítico.

Horgan J. (1991) In the beginning... *Sci. Am.* **264** (February), 116-125.

Uma exposição clara e concisa das teorias atuais a respeito da evolução pré-biótica.

Lazcano A & Miller SL. (1996) The origin and early evolution of life: prebiotic chemistry, the pre-RNA world, and time. *Cell.* **85**, 793-798.

Revisão breve de desenvolvimentos recentes sobre estudos da origem da vida: atmosferas primitivas, ventos submarinos, origem autotrófica *versus* heterotrófica, mundo do RNA e pré-RNA e o tempo necessário para surgir a vida.

Miller SL. (1987) Which organic compounds could have occurred on the prebiotic earth? *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **52**, 17-27.

Sumário dos experimentos de laboratório sobre evolução química pelo indivíduo que fez o experimento original de Miller-Urey.

Miller SL & Orgel LE. (1974) *The Origins of Life on the Earth*, Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ. The New Age of RNA. (1993) *FASEB J.* 7 (1).

Uma coleção de aproximadamente 15 artigos concisos relacionados ao cenário do "mundo do RNA".

Robertson MP & Ellington AD. (1997) Ribozymes: red in tooth and claw. *Curr. Biol.* 7, R376-R379.

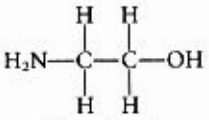
Schopf JW (ed). (1983) *Earth's Earliest Biosphere*, Princeton University Press, Princeton, NJ.

Uma discussão abrangente da história geológica e sua relação com o desenvolvimento da vida.

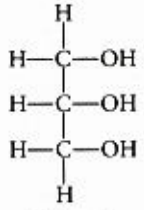
Problemas

1. Vitamina C: a vitamina sintética é tão boa quanto a natural? Os naturalistas alegam vigorosamente que as vitaminas obtidas de fontes naturais são mais saudáveis do que aquelas obtidas por síntese química. Por exemplo, alega-se que o ácido L-ascórbico (vitamina C) obtido de algumas frutas é melhor para você do que o ácido L-ascórbico puro sintetizado em laboratórios químicos. As vitaminas das duas fontes são realmente diferentes? O organismo pode distinguir a fonte ou a origem de uma vitamina?

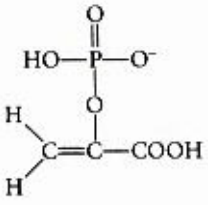
2. Identificação de grupos funcionais. As Figuras 3-5 e 3-6 mostram os grupos funcionais comuns das biomoléculas. Como as propriedades e as atividades biológicas das biomoléculas são largamente determinadas por seus grupos funcionais, é importante ser capaz de reconhecê-los. Identifique e denomine cada um dos grupos funcionais presentes nas moléculas apresentadas abaixo.



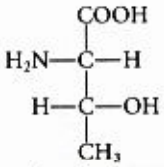
Etanolamina
(a)



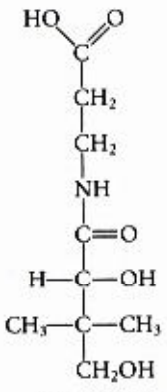
Glicerol
(b)



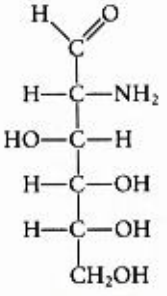
Ácido fosfoenolpirúvico, um intermediário no metabolismo da glicose
(c)



Treonina, um aminoácido
(d)



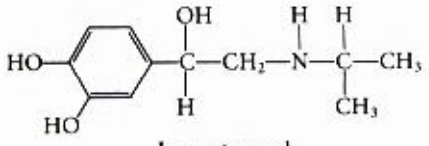
Ácido pantotênico, uma vitamina
(e)



D-glicosamina
(f)

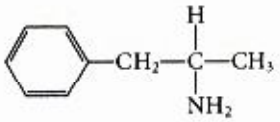
Problema 2

3. Estereoquímica e atividade farmacológica de uma droga. As diferenças quantitativas na atividade biológica exibida por dois enantiômeros são, às vezes, muito grandes. Por exemplo, o isômero D da droga isoproterenol (usada no tratamento da asma leve ou moderada) é de 50 a 80 vezes mais efetivo como broncodilatador do que o isômero L. Identifique o centro quiral do isoproterenol. Por que os dois enantiômeros têm bioatividade tão radicalmente diferente?



Isoproterenol

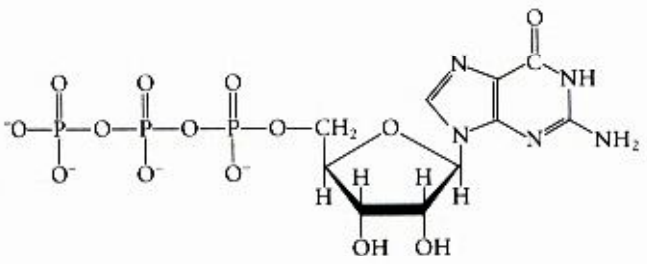
4. Forma das moléculas e ação farmacológica de drogas. Alguns anos atrás duas companhias farmacêuticas comercializaram um remédio sob os nomes de Dexedrina e Benzedrina. A estrutura da droga é mostrada abaixo.



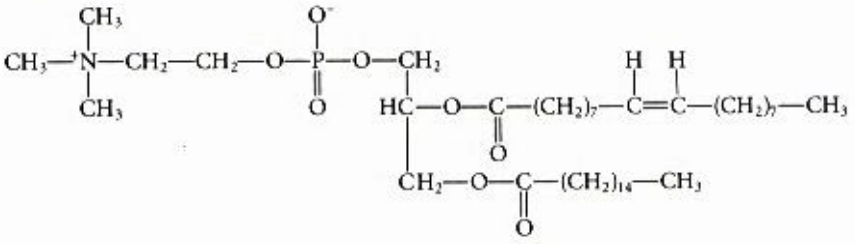
As propriedades físicas e químicas (elementos constitutivos como C, H, N, ponto de fusão, solubilidade etc.) de ambas eram idênticas. A dosagem por via oral recomendada da Dexedrina (a qual ainda está à venda) era 5mg por dia, mas a dosagem recomendada da Benzedrina era significativamente mais alta. Aparentemente, para um mesmo efeito, era necessária uma dose muito menor de Dexedrina. Explique essa contradição.

5. Componentes de biomoléculas complexas. A Figura 3-24 mostra os principais componentes das biomoléculas complexas. Identifique os constituintes de cada uma das três biomoléculas importantes mostradas abaixo em suas formas iônicas predominantes em valores de pH fisiológico.

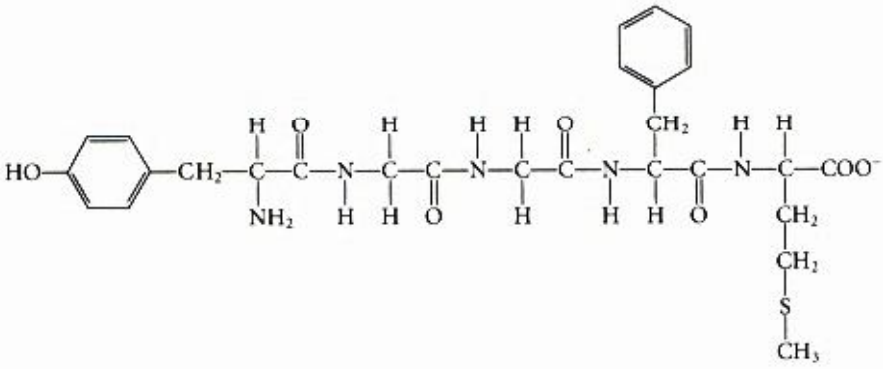
(a) Trifosfato de guanosina (GTP), um nucleotídeo rico em energia que serve como precursor do RNA:



(b) Fosfatidilcolina, um componente de muitas membranas celulares:



(c) Metionina-encefalina, o opióide produzido pelo cérebro:



Problema 5

6. Determinação da estrutura de uma biomolécula. Uma substância desconhecida X foi isolada do músculo de coelho. A estrutura de X foi determinada a partir das experiências e observações descritas a seguir. A análise qualitativa mostrou que X era composto inteiramente de carbono, hidrogênio e oxigênio. Uma amostra de X de massa conhecida foi completamente oxidada e medidas as quantidades de água e dióxido de carbono produzidas. A partir dessa análise quantitativa, concluiu-se que X continha 40,00% de C, 6,71% de H e 53,29% de O, por peso. O peso molecular de X foi determinado por meio de um espectrômetro de massa, resultando em 90,00. Um espectro infravermelho de X mostrou que ele continha uma dupla ligação. A substância X era consideravelmente solúvel em água e dava uma solução ácida. Uma solução de X foi testada em um polarímetro e demonstrou possuir atividade óptica.

(a) Determine as fórmulas empírica e molecular de X.

(b) Desenhe as possíveis estruturas de X que satisfaçam a fórmula molecular e contenham uma dupla ligação. Considere *apenas* estruturas lineares ou ramificadas e não considere estruturas cíclicas. Note que o oxigênio forma consigo mesmo ligações muito fracas.

(c) Qual é o significado estrutural da atividade óptica observada? Que estruturas no item (b) são eliminadas por essa observação? Que estruturas são compatíveis com ela?

(d) Qual é o significado estrutural da observação de que a solução de X era ácida? Que estruturas em (b) podem ser eliminadas agora? Que estruturas são compatíveis com essa observação?

(e) Qual é a estrutura de X? Existe mais de uma estrutura compatível com todos os dados experimentais?

7. Separação de biomoléculas. No laboratório de bioquímica primeiramente é necessário separar a molécula de interesse de outras biomoléculas presentes em uma amostra — isto é, purificar proteínas, ácidos nucléicos, carboidratos ou lipídios. Técnicas de purificação serão tratadas posteriormente no texto do livro. Porém, somente pela observação das subunidades monoméricas das quais as biomoléculas grandes são formadas, você deve imaginar quais características dessas biomoléculas permitem separá-las umas das outras.

(a) Quais características do aminoácido e do ácido graxo permitiriam separá-los facilmente um do outro?

(b) Como os nucleotídeos devem ser separados das moléculas de glicose?

8. Vida baseada em silício? Silício é um elemento químico do mesmo grupo da tabela periódica que o carbono e, como ele, é capaz de formar quatro ligações simples. Muitas histórias de ficção científica foram descritas e fundamentadas na premissa da vida ser baseada em silício: isso é real? Quais as características do silício que o fazem menos adaptado para ser o elemento organizacional central para a vida? Para responder esta questão, use a informação deste capítulo sobre a versatilidade da ligação do carbono e referência sobre o livro-texto que trata do início da química inorgânica para as propriedades da ligação do silício.

CAPÍTULO 4

Água

A água é a substância mais abundante nos sistemas vivos, perfazendo 70% ou mais da massa da maioria dos organismos. Os primeiros organismos vivos provavelmente apareceram em um ambiente aquoso, e a evolução foi marcada pelas propriedades do meio aquoso onde a vida começou.

Este capítulo começa com a descrição das propriedades físicas e químicas da água em relação às quais todos os aspectos da estrutura e função da célula estão adaptados. As forças de atração entre as moléculas da água e a pequena tendência da água em se ionizar são de importância crucial para a estrutura e função das biomoléculas. Nós reveremos o tópico da ionização em termos de constantes de equilíbrio, pH e curvas de titulação e consideraremos como as soluções aquosas de ácidos ou bases fracas e seus sais funcionam como tampões contra as variações de pH nos sistemas biológicos. A molécula de água e seus produtos de ionização, H^+ e OH^-, influenciam profundamente a estrutura, a automontagem e as propriedades de todos os componentes celulares, incluindo proteínas, ácidos nucléicos e lipídios. As interações não-covalentes, responsáveis pela força e especificidade do reconhecimento entre as biomoléculas, são influenciadas decisivamente pelas propriedades solventes da água.

Vista do espaço interplanetário; a Terra mostra que a maior parte de sua superfície é coberta de água. Os mares, onde provavelmente a vida surgiu, são atualmente o habitat de incontáveis organismos.

Interações Fracas em Sistemas Aquosos

As pontes de hidrogênio entre as moléculas de água fornecem as forças coesivas, as quais tornam a água um líquido à temperatura ambiente e favorecem um rígido ordenamento das moléculas que é típico da água cristalizada (gelo). As biomoléculas polares dissolvem-se facilmente na água porque podem substituir as interações água-água por interações água-soluto, mais favoráveis energeticamente. Diferentemente, as biomoléculas não-polares interferem com as interações água-água, mas são incapazes de formar interações água-soluto — conseqüentemente moléculas não-polares são pouco solúveis em água. Em solução aquosa, moléculas não-polares tendem a se agregar.

As pontes de hidrogênio, as interações iônicas, as interações hidrofóbicas (do grego, "que teme a água") e as interações de van der Waals são individualmente fracas, mas coletivamente têm uma influência muito significativa na estrutura tridimensional de proteínas, ácidos nucléicos, polissacarídeos e lipídios de membranas.

As pontes de hidrogênio conferem à água suas propriedades incomuns

A água tem ponto de fusão, ponto de ebulição e calor de vaporização maiores que os da maioria de outros solventes comuns (Tabela 4-1). Essas propriedades incomuns da água são uma conseqüência das atrações entre moléculas de água adjacentes que dão à água líquida uma grande coesão interna. A observação da estrutura eletrônica da água revela a causa dessas atrações intermoleculares.

Tabela 4-1 – Temperaturas de fusão, ebulição e calor de vaporização de alguns solventes comuns

	Ponto de fusão (°C)	Ponto de ebulição (°C)	Calor de vaporização (J/g)*
Água	0	100	2.260
Metanol (CH_3OH)	–98	65	1.100
Etanol (CH_3CH_2OH)	–117	78	854
Propanol ($CH_3CH_2CH_2OH$)	–127	97	687
Butanol ($CH_3(CH_2)_2CH_2OH$)	–90	117	590
Acetona (CH_3COCH_3)	–95	56	523
Hexano ($CH_3(CH_2)_4CH_3$)	–98	69	423
Benzeno (C_6H_6)	6	80	394
Butano ($CH_3(CH_2)_2CH_3$)	–135	–0,5	381
Clorofórmio ($CHCl_3$)	–63	61	247

* Energia calorífica necessária para converter em vapor 1,0g do líquido, estando ambos na sua temperatura de ebulição e sob pressão atmosférica normal. O calor de vaporização é uma medida direta da energia necessária para romper as forças de atração entre as moléculas na fase líquida.

Cada átomo de hidrogênio da molécula de água compartilha um par de elétrons com o átomo de oxigênio. A geometria da molécula de água é determinada pelas formas dos orbitais eletrônicos externos do átomo de oxigênio, que são similares aos orbitais de ligação do átomo de carbono (veja Fig. 3-4a). Esses orbitais descrevem grosseiramente um tetraedro, com um átomo de hidrogênio em dois dos ângulos e elétrons desempa-

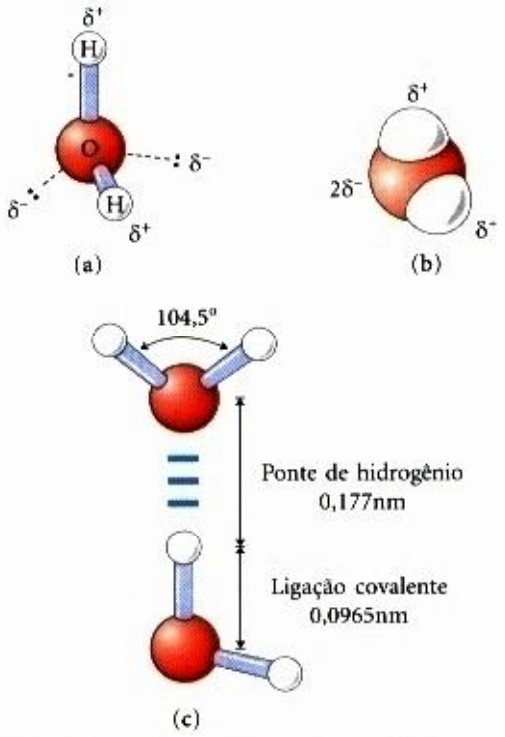


Figura 4-1 – Estrutura da molécula da água. A natureza dipolar da molécula de água é mostrada pelos modelos (**a**) bola-e-bastão e (**b**) espaço-cheio. As linhas pontilhadas em (**a**) representam os orbitais que não formam ligações. Existe um arranjo quase tetraédrico dos elétrons da camada mais externa ao redor do átomo de oxigênio; os dois átomos de hidrogênio apresentam cargas elétricas parciais positivas localizadas (δ^+), e o átomo de oxigênio, uma carga parcial negativa ($2\delta^-$). (**c**) Duas moléculas de H_2O unidas por uma ponte de hidrogênio (designada por três linhas azuis) entre o átomo de oxigênio da molécula que está acima e o átomo de hidrogênio da molécula que está abaixo. As pontes de hidrogênio são mais longas e mais fracas que as ligações covalentes O—H.

relhados nos outros dois ângulos (Fig. 4-1). O ângulo da ligação H—O—H é 104,5°, um pouco menor que os 109,5° de um tetraedro perfeito, devido à compressão causada pelos orbitais não-ligantes do átomo de oxigênio.

O núcleo do oxigênio atrai elétrons de maneira mais forte que o núcleo do hidrogênio (próton); o oxigênio é mais eletronegativo (veja Tabela 3-2). Portanto, o compartilhamento dos elétrons entre H e O é desigual; os elétrons permanecem, com mais freqüência, nas vizinhanças do átomo de oxigênio do que nas do átomo de hidrogênio. O resultado desse compartilhamento desigual dos elétrons são dois dipolos elétricos na molécula de água, um ao longo de cada uma das ligações H—O; o átomo de oxigênio possui uma carga elétrica negativa parcial ($2\delta^-$), e cada hidrogênio, uma carga parcial positiva (δ^-). Como resultado, existe uma atração eletrostática entre o átomo de oxigênio de uma molécula de água e o átomo de hidrogênio de uma outra molécula (Fig. 4-1c), denominada **ponte de hidrogênio**. Ao longo deste livro, representaremos as pontes de hidrogênio com três linhas azuis paralelas como na Figura 4-1c.

As pontes de hidrogênio são mais fracas que as ligações covalentes. As pontes de hidrogênio na água líquida têm uma **energia de dissociação de ligação** (energia necessária para romper a ligação) da ordem de 20kJ/mol, comparada com 348kJ/mol para a ligação covalente C—C. À temperatura ambiente, a energia térmica de uma solução aquosa (energia cinética resultante do movimento dos átomos e moléculas individuais) é da mesma ordem de grandeza que a da requerida para quebrar as pontes de hidrogênio. Quando a água é aquecida, o aumento da sua temperatura acarreta um movimento mais rápido das suas moléculas individuais. Embora, em qualquer instante, a maioria das moléculas da água líquida esteja ligada por pontes de hidrogênio, o tempo de vida de cada ponte de hidrogênio é menor que 1×10^{-9}s. O termo "aglomerados oscilantes" é apropriado para designar grupos de vida curta de moléculas ligadas entre si por pontes de hidrogênio na água líquida. A soma de todas as pontes de hidrogênio acarreta uma grande coesão interna à água líquida.

O arranjo quase tetraédrico dos orbitais ao redor do átomo de oxigênio (Fig. 4-1a) permite a cada molécula de água formar pontes de hidrogênio com até quatro outras moléculas de água vizinhas. Entretanto, na água líquida, à temperatura e à pressão atmosférica ambientes, as moléculas de água estão desorganizadas e em contínuo movimento, de modo que cada molécula forma pontes de hidrogênio com cerca de outras 3,4 moléculas. No gelo, por outro lado, cada molécula de água está fixa em um determinado espaço e forma pontes de hidrogênio com outras quatro moléculas de água originando uma rede regular (Fig. 4-2). O rompimento de certo número de pontes de hidrogênio suficiente para desestabilizar a rede cristalina requer uma grande quantidade de energia térmica, o que contribui para o ponto de fusão relativamente alto da água (Tabela 4-1). Quando o gelo se funde ou a água se evapora, o calor é absorvido pelo sistema:

$$H_2O(s) \longrightarrow H_2O(l) \quad \Delta H = +5{,}9\text{kJ/mol}$$
$$H_2O(l) \longrightarrow H_2O(g) \quad \Delta H = +44{,}0\text{kJ/mol}$$

Durante a fusão ou a evaporação, a entropia do sistema aquoso aumenta à medida que os arranjos altamente ordenados de moléculas de água se relaxam em arranjos menos ordenados de pontes de hidrogênio na água líquida, ou na total desorganização do estado gasoso. À temperatura ambiente, tanto a fusão do gelo como a evaporação da água ocorrem espontaneamente; a tendência de as moléculas de água se associarem por meio de pontes de hidrogênio é compensada pelo impulso

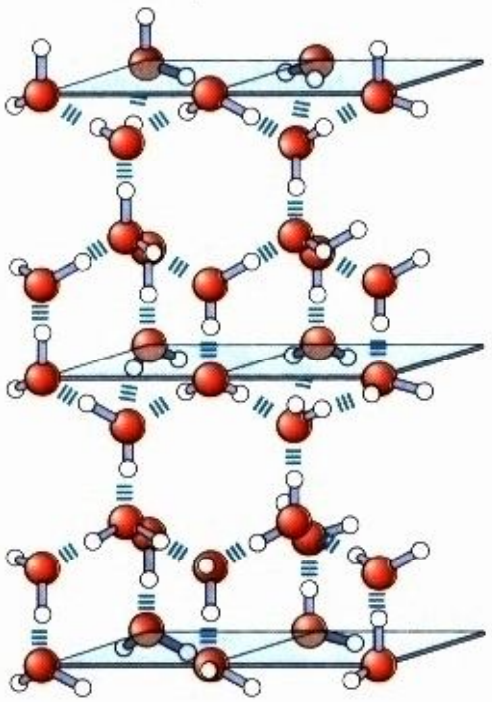


Figura 4-2 – Ponte de hidrogênio no gelo. Cada molécula de água forma um máximo de quatro pontes de hidrogênio, criando uma rede cristalina regular. Na água líquida, à temperatura e à pressão atmosférica ambientes, contrastantemente, cada molécula de água forma em média 3,4 pontes de hidrogênio com outras moléculas de água. A rede cristalina do gelo ocupa mais espaço que o mesmo número de moléculas de H_2O ocupa na água líquida; assim, o gelo é menos denso que a água líquida e, portanto, nela flutua.

energético em direção à desordem. Lembre-se de que a variação de energia livre (ΔG) deve ter um valor negativo para um processo ocorrer espontaneamente: $\Delta G = \Delta H - T\,\Delta S$, onde ΔG representa a força propulsora; ΔH a mudança da entalpia para fazer e romper ligações; e ΔS o aumento da desordem. Uma vez que ΔH é positivo para a fusão e a evaporação, fica evidente que é o aumento na entropia (ΔS) que torna ΔG negativo e propicia essas transformações.

A água forma pontes de hidrogênio com os solutos polares

As pontes de hidrogênio não são restritas à água. Elas se formam facilmente entre um átomo eletronegativo (o aceptor de hidrogênio, usualmente oxigênio ou nitrogênio, com um par de elétrons livre) e um átomo de hidrogênio ligado covalentemente a outro átomo eletronegativo (doador de elétrons), na mesma ou em outra molécula (Fig. 4-3). Os átomos de hidrogênio ligados covalentemente a átomos de carbono (que não são eletronegativos) não participam das pontes de hidrogênio. Essa diferença explica por que o butanol ($CH_3CH_2CH_2CH_2OH$) tem um ponto de ebulição relativamente alto, de 117°C, enquanto o butano ($CH_3CH_2CH_2CH_3$) tem um ponto de ebulição de apenas –0,5°C. O butanol tem um grupo hidroxila polar e, assim, pode formar pontes de hidrogênio intermolecular.

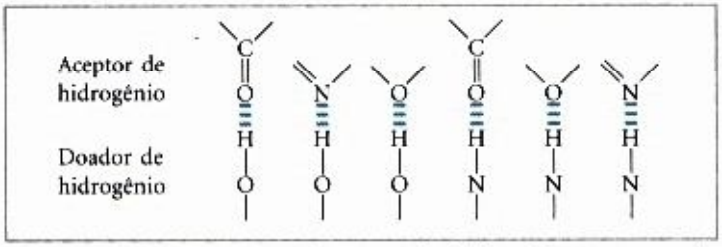


Figura 4-3 – Tipos comuns de pontes de hidrogênio. O aceptor de hidrogênio geralmente é o oxigênio ou o nitrogênio.

As biomoléculas polares porém não-carregadas, como os açúcares, dissolvem-se facilmente na água devido ao efeito estabilizador das pontes de hidrogênio que se formam entre os grupos hidroxila ou o oxigênio do grupo carbonila do açúcar e as moléculas polares da água. Os álcoois, aldeídos, cetonas e compostos que apresentam ligações N—H formam pontes de hidrogênio com moléculas de água (Fig. 4-4) e tendem a ser solúveis na água.

As pontes de hidrogênio são mais fortes quando as moléculas por elas unidas estão orientadas de forma a maximizar a interação eletrostática, o que ocorre quando o átomo de hidrogênio e os dois átomos que o compartilham estão localizados em uma mesma linha reta, isto é, quando o átomo aceptor está alinhado com a ligação covalente entre o átomo doador e o H (Fig. 4-5). Assim, as pontes de hidrogênio são altamente direcionais e capazes de manter duas moléculas ou grupos unidos por pontes de hidrogênio em um arranjo geométrico específico. Como veremos mais adiante, essa propriedade das pontes de hidrogênio acarreta estruturas tridimensionais muito precisas às moléculas de proteínas e ácidos nucléicos, que apresentam um grande número de pontes de hidrogênio intramoleculares.

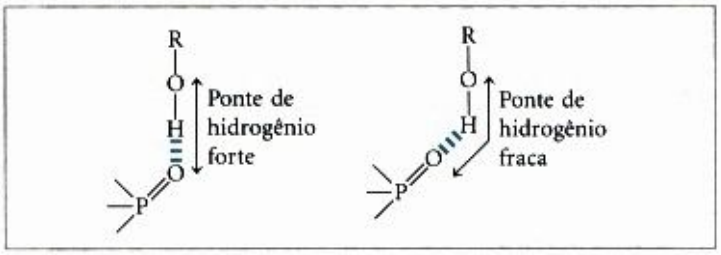


Figura 4-5 – Orientação das pontes de hidrogênio. A atração entre as cargas elétricas parciais (veja Fig. 4-1) é maior quando os três átomos envolvidos (neste caso O, H e O) estão alinhados. Quando as metades ligadas pela ponte de hidrogênio estão estruturalmente restritas (como, por exemplo, quando elas são partes de uma simples molécula de proteína), essa geometria ideal pode não ocorrer e a ponte de hidrogênio resultante é mais fraca.

A água interage eletrostaticamente com os solutos que exibem carga elétrica

A água é um solvente polar. Ela dissolve facilmente a maioria das biomoléculas, que geralmente são compostos carregados eletricamente ou polares (Tabela 4-2); compostos que se dissolvem facilmente na água são **hidrofílicos** (do grego "que gosta da água"). Em contraste, solventes não-polares tais como o clorofórmio e o benzeno são muito pobres para as biomoléculas polares, mas dissolvem facilmente aquelas que são **hidrofóbicas** — moléculas não-polares como os lipídios e as ceras.

A água dissolve sais como o NaCl hidratando e estabilizando os íons Na^+ e Cl^-, enfraquecendo as interações eletrostáticas entre eles e assim contrapondo-se à tendência de se associarem em uma rede cristalina (Fig. 4-6). Os mesmos fatores são aplicáveis às biomoléculas carregadas eletricamente, compostos

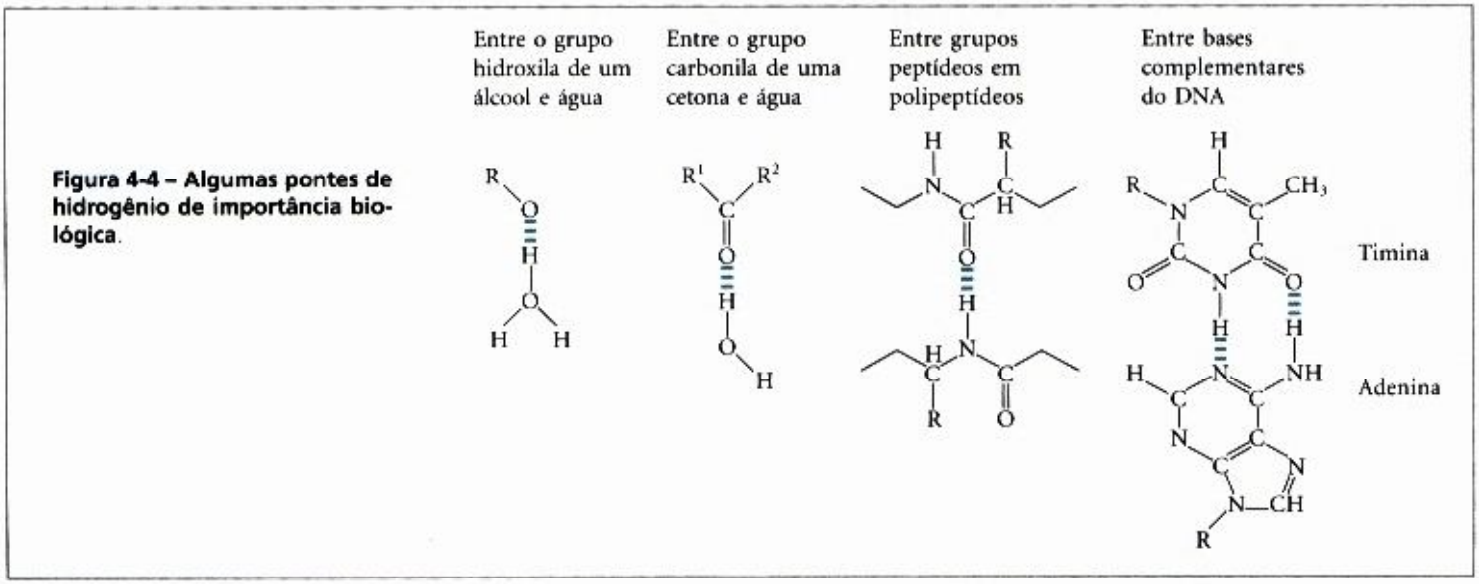
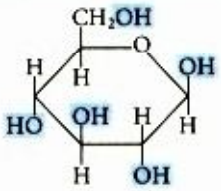


Figura 4-4 – Algumas pontes de hidrogênio de importância biológica.

Tabela 4-2 – Alguns exemplos de biomoléculas polares, não-polares e anfipáticas (mostradas como formas iônicas em pH 7)

Polar

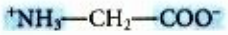
Glicose



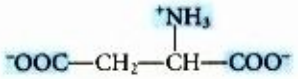
Grupos polares

Grupos não-polares

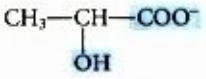
Glicina



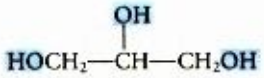
Aspartato



Lactato

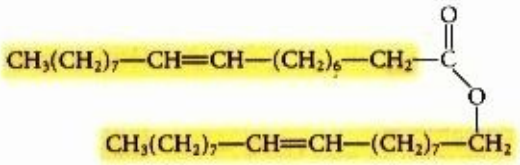


Glicerol



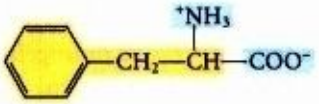
Não-polar

Cera típica

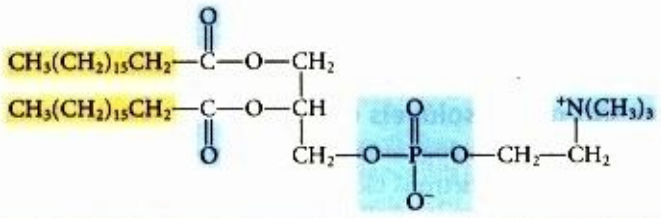


Anfipática

Fenilalanina



Fosfatidilcolina



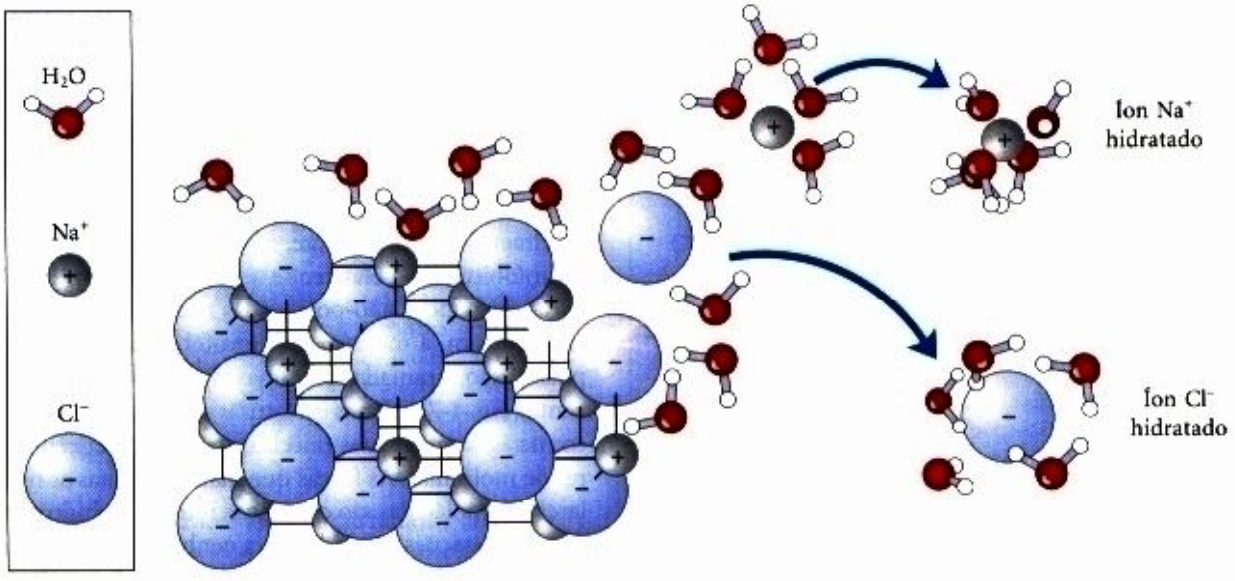


Figura 4-6 – A água dissolve muitos sais cristalinos por meio da hidratação dos íons que os constituem. A rede cristalina do NaCl é rompida à medida que as moléculas de H_2O se agregam ao redor dos íons Cl^- e Na^+. As cargas iônicas são neutralizadas parcialmente, e a atração eletrostática necessária para a formação da rede é enfraquecida.

com grupos funcionais tais como ácidos carboxílicos ionizados (—COO^-), aminas protonadas (—NH_3^+), ésteres ou anidridos fosfóricos. A água dissolve facilmente esses compostos substituindo as pontes de hidrogênio soluto-soluto por pontes de hidrogênio soluto-água, atenuando as interações eletrostáticas entre as moléculas do soluto.

A água é especialmente efetiva em atenuar as interações eletrostáticas entre os íons dissolvidos, devido à sua alta constante dielétrica, uma propriedade física que reflete o número de dipolos em um solvente. A intensidade ou força (F) das interações iônicas em uma solução depende da magnitude das cargas (Q), da distância entre os grupos carregados (r) e da constante dielétrica (ε) do solvente em que ocorre a interação:

$$F = \frac{Q_1 Q_2}{\varepsilon r^2}$$

Para a água a 25°C, ε (que não tem dimensões) é 78,5, e para o solvente orgânico apolar benzeno, ε é 4,6. Assim, as interações iônicas são muito mais fortes em ambientes de baixa polaridade. A dependência de fator r^2 é tal que as atrações ou as repulsões iônicas operam somente a curtas distâncias — no intervalo de 10 a 40nm (dependendo da concentração total de eletrólitos), quando o solvente é a água.

A entropia aumenta quando substâncias cristalinas são dissolvidas

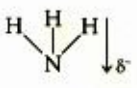
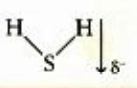
À medida que um sal como o NaCl se dissolve, os íons Na^+ e Cl^-, ao deixarem a rede cristalina, adquirem maior grau de liberdade de movimento (Fig. 4-6). O conseqüente aumento na entropia (desordem) do sistema é o grande responsável pela facilidade de dissolução de sais, como o NaCl na água. Em termos termodinâmicos, a formação da solução ocorre com uma mudança favorável na energia livre: $\Delta G = \Delta H - T\,\Delta S$, onde ΔH tem um valor positivo pequeno, e $T\,\Delta S$, um valor positivo grande; assim, ΔG é negativo.

Os gases não-polares são pouco solúveis em água

As moléculas dos gases CO_2, O_2 e N_2, biologicamente importantes, são não-polares. No O_2 e no N_2, os elétrons são compartilhados igualmente pelos dois átomos. No CO_2, cada ligação C=O é polar, mas os dois dipolos estão direcionados de forma oposta e se cancelam mutuamente (Tabela 4-3). A passagem dessas moléculas da fase gasosa desordenada para a solução aquosa restringe seus movimentos e o movimento das moléculas da água; portanto, representa uma diminuição na entropia. A natureza não-polar desses gases e a diminuição na entropia quando eles passam para a solução é uma combinação que os torna pouco solúveis em água (Tabela 4-3). Alguns organismos apresentam proteínas carregadoras solúveis na água (hemoglobina e mioglobina, por exemplo) que facilitam o transporte do O_2. Em solução aquosa, o dióxido de carbono forma o ácido carbônico (H_2CO_3) e é transportado como HCO_3^- na forma livre — bicarbonato é muito solúvel em água (~ 100g/L, a 25°C) — ou ligado à hemoglobina.

Dois outros gases, NH_3 e H_2S, também têm funções biológicas em alguns organismos. Esses gases são polares e se dissolvem facilmente na água.

Tabela 4-3 – Solubilidade de alguns gases em água

Gás	Estrutura*	Polaridade	Solubilidade em água (g/L)†
Nitrogênio	N≡N	Não-polar	0,018 (40°C)
Oxigênio	O=O	Não-polar	0,035 (50°C)
Dióxido de carbono	$\overset{\delta^-}{\leftarrow}\ \overset{\delta^-}{\rightarrow}$ O=C=O	Não-polar	0,97 (45°C)
Amônia		Polar	900 (10°C)
Sulfeto de hidrogênio		Polar	1.860 (40°C)

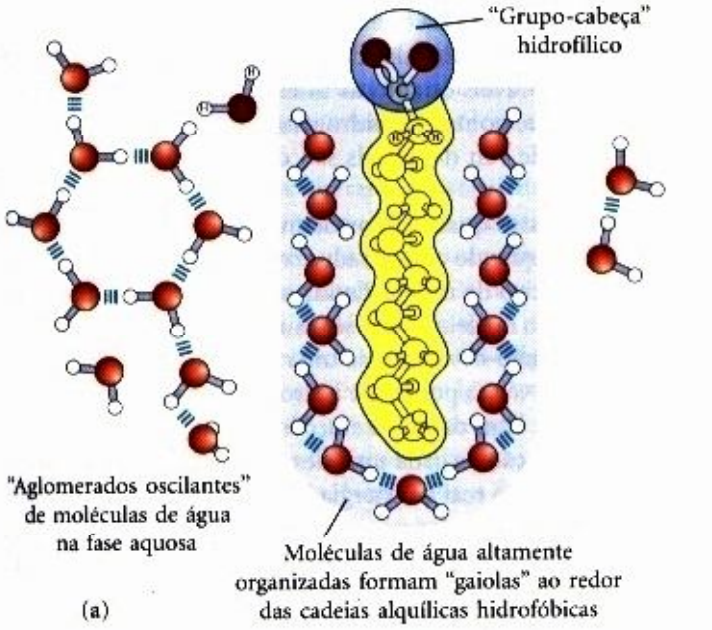
*As setas representam dipolos elétricos; existe uma carga parcial negativa (δ^-) na ponta da seta e uma carga positiva parcial (δ^+, não exibida aqui) na extremidade oposta.

† Note que as moléculas polares se dissolvem muito melhor, mesmo a baixas temperaturas, que as moléculas não-polares, a temperaturas relativamente mais elevadas.

Compostos não-polares forçam mudanças energeticamente desfavoráveis na estrutura da água

Quando a água é misturada com benzeno ou hexano, formam-se duas fases: nenhum líquido é solúvel no outro. Compostos não-polares como benzeno e hexano são hidrofóbicos — eles são incapazes de interagir de forma energeticamente favorável com as moléculas da água e interferem com as pontes de hidrogênio entre as moléculas de água. Todas as moléculas ou íons dissolvidos na água interferem com as pontes de hidrogênio de algumas moléculas de água que estão na sua vizinhança imediata, mas solutos polares ou carregados (como NaCl) compensam a perda de pontes de hidrogênio água-água, formando novas interações água-soluto. A variação da entalpia (ΔH) para dissolver esses solutos é geralmente pequena. Solutos hidrofóbicos, entretanto, não oferecem essa compensação e a sua adição à água pode, portanto, resultar em um pequeno ganho de entalpia; a quebra de pontes de hidrogênio entre as moléculas de água retira energia do sistema. Além disso, a dissolução de compostos hidrofóbicos na água resulta em uma diminuição mensurável na entropia. As moléculas de água nas vizinhanças imediatas de um soluto não-polar apresentam uma restrição em relação às suas possíveis orientações, à medida que formam um arcabouço semelhante a uma gaiola, altamente organizado, ao redor de cada molécula de soluto. Essas moléculas de água não são altamente organizadas como aquelas nos compostos cristalinos de um soluto não-polar e água (**clatrato**), mas o efeito é o mesmo em ambos os casos: a organização das moléculas da água diminui a entropia. O número de moléculas de água organizadas, por conseguinte a diminuição da entropia, é proporcional à área da superfície do soluto hidrofóbico preso dentro da gaiola de moléculas de água. Assim, a variação da energia livre para dissolver um soluto não-polar na água é desfavorável: $\Delta G = \Delta H - T\,\Delta S$, onde ΔH tem um valor positivo, ΔS, um valor negativo, e ΔG é positivo.

Compostos **anfipáticos** têm regiões polares (ou carregadas) e regiões não-polares (Tabela 4-2). Quando um composto anfipático é misturado com água, a região hidrofílica polar interage favoravelmente com o solvente, que tende a se dissolver; mas a região hidrofóbica não-polar tende a evitar o contato com a água (Fig. 4-7a). As regiões não-polares das moléculas se agregam, apresentando, assim, a menor área hidrofóbica ao solvente, e as regiões polares são arranjadas para maximizar a sua interação com o solvente (Fig. 4-7b). Essas estruturas estáveis de compostos anfipáticos na água, chamadas **micelas**, podem conter centenas ou milhares de moléculas. As forças que mantêm juntas as regiões não-polares das moléculas são chamadas **interações hidrofóbicas**. A força dessas interações não é devida a nenhuma atração intrínseca entre as moléculas não-polares. Ao contrário, ela resulta do fato de o sistema atingir a maior estabilidade termodinâmica, minimizando o número de moléculas de água ordenadas, requeridas para envolver as regiões hidrofóbicas das moléculas do soluto.



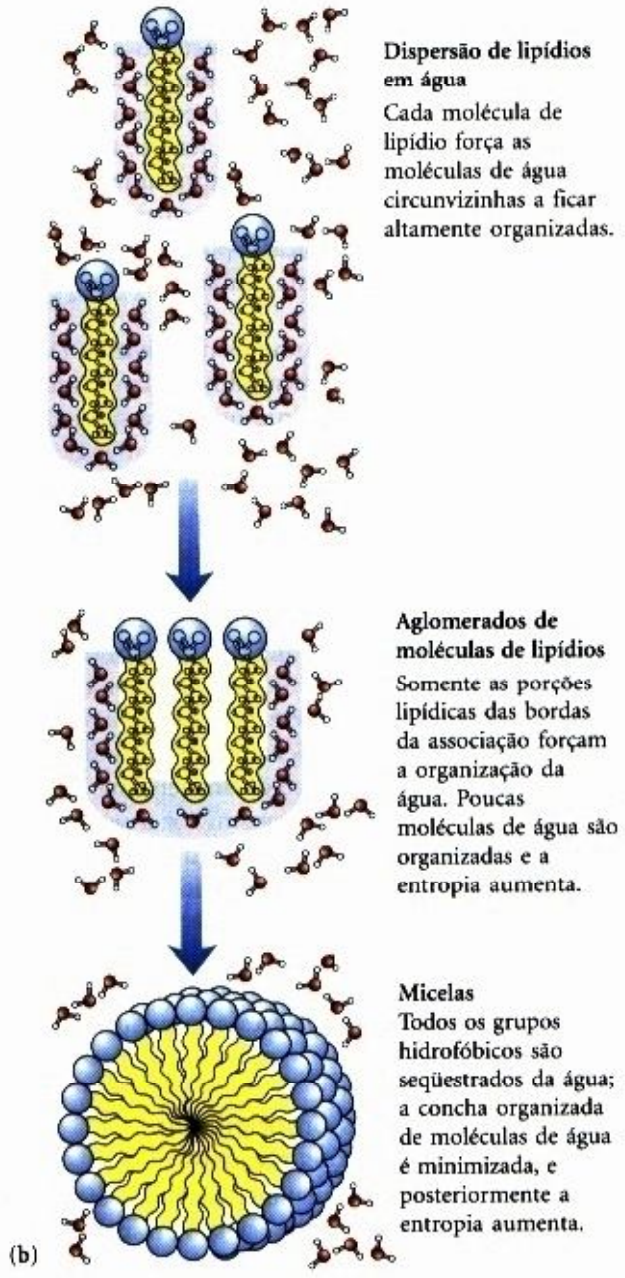


Figura 4-7 – Compostos anfipáticos em solução aquosa. (**a**) Os ácidos graxos de cadeia longa têm cadeias alquílicas muito hidrofóbicas, cada uma delas é envolvida por uma camada de moléculas de H_2O altamente ordenadas. (**b**) Agregando-se em micelas, as moléculas de ácidos graxos expõem a menor área superficial hidrofóbica possível à água, e poucas moléculas de água são requeridas na camada ordenada de H_2O. A energia ganha pela liberação das moléculas de H_2O imobilizada estabiliza a micela.

Muitas biomoléculas são anfipáticas: proteínas, pigmentos, algumas vitaminas, esteróides e fosfolipídios de membranas têm regiões superficiais polares e não-polares. As estruturas que compõem essas moléculas são estabilizadas por interações hidrofóbicas ao longo das regiões não-polares. As interações hidrofóbicas entre lipídios e entre lipídios e proteínas são os determinantes mais importantes da estrutura das membranas biológicas. As interações hidrofóbicas entre aminoácidos não-polares também estabilizam o enovelamento tridimensional das proteínas. As pontes de hidrogênio entre as moléculas de água e os solutos polares também provocam alguma organização das moléculas da água, mas o efeito é significativamente menor que aquele observado com solutos não-polares. Parte da força de ligação de um substrato polar (reagente) à superfície complementar polar de uma enzima provém do aumento da entropia, à medida que a enzima desloca a água organizada ao redor do substrato (Fig. 4-8).

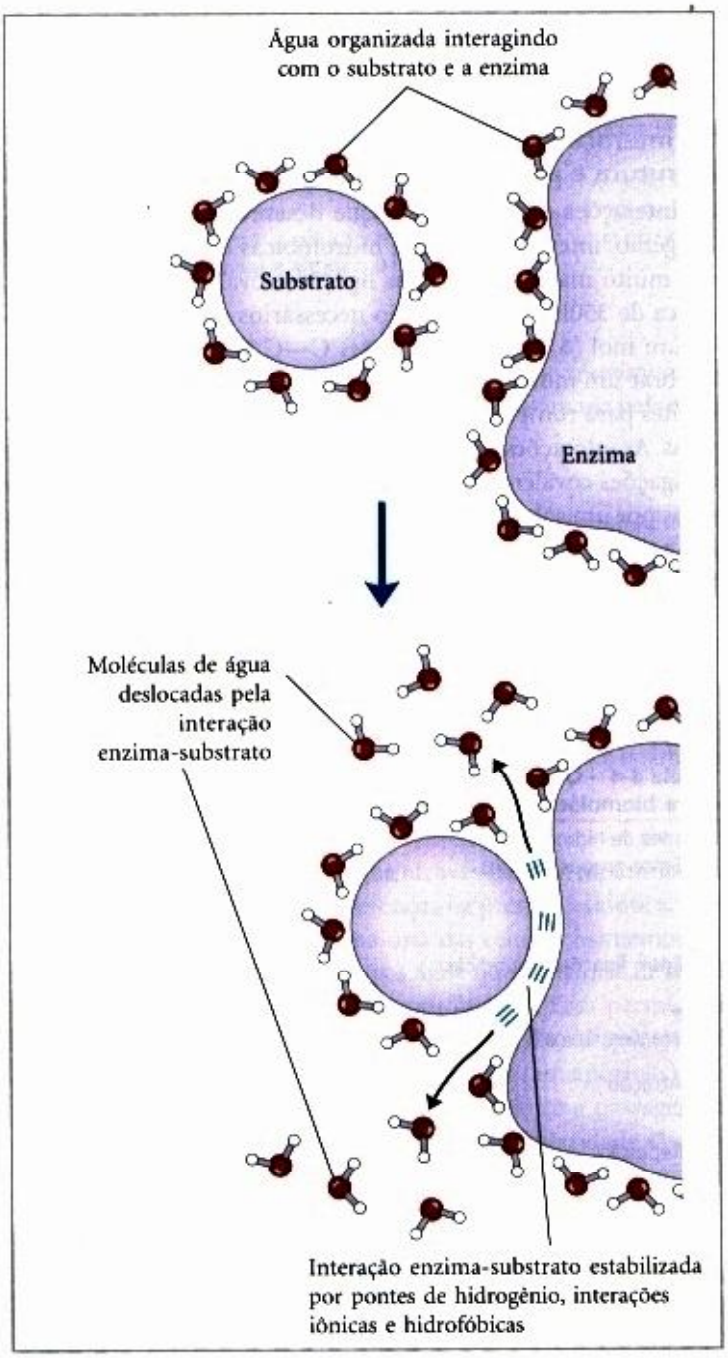


Figura 4-8 – A remoção da água organizada favorece a formação do complexo enzima-substrato. Quando separadas, a molécula da enzima e a do substrato forçam as moléculas de água circunvizinhas a se organizarem na forma de uma concha. A ligação do substrato com a enzima libera algumas dessas moléculas organizadas e o aumento da entropia resultante propicia um impulso termodinâmico na direção da formação do complexo enzima-substrato.

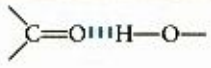
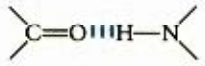
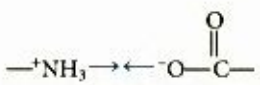
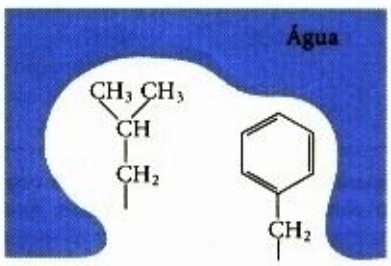
As interações de van der Waals são atrações interatômicas fracas

Quando dois átomos não-carregados se aproximam, as nuvens eletrônicas que os rodeiam passam a influenciar umas às outras. Variações casuais nas posições dos elétrons ao redor de um dos núcleos podem criar um dipolo elétrico transiente, que induz no átomo próximo um outro dipolo elétrico oposto, também transiente. Os dois dipolos se atraem fracamente, aproximando os dois núcleos. Essas atrações fracas são chamadas **interações de van der Waals**. À medida que os dois núcleos se aproximam, as suas nuvens eletrônicas começam a se repelir. Na distância em que a atração de van der Waals contrabalança exatamente essa força repulsiva, os núcleos são considerados estar em contato de van der Waals. Cada átomo tem um **raio de van der Waals** característico: uma medida de quão perto esse átomo permitirá que um outro se aproxime (veja Tabela 3-1). Nos modelos moleculares de "espaço-cheio" mostrados neste livro (por exemplo, Fig. 3-7c), os átomos são representados em tamanhos proporcionais aos seus raios de van der Waals.

As interações fracas são cruciais para a estrutura e a função das macromoléculas

As interações não-covalentes que descrevemos (pontes de hidrogênio, interações iônicas, hidrofóbicas e de van der Waals) são muito mais fracas que as ligações covalentes (Tabela 4-4). Cerca de 350kJ de energia são necessários para o rompimento de um mol (6×10^{23}) de ligações C—C, e cerca de 410kJ para quebrar um mol de ligações C—H, mas menos de 4kJ são suficientes para romper um mol de interações de van der Waals típicas. As interações hidrofóbicas são igualmente mais fracas que as ligações covalentes, embora sejam substancialmente fortalecidas por um solvente altamente polar (por exemplo, uma solução salina concentrada). As interações iônicas e as pontes de hidrogênio apresentam forças de ligação variáveis, dependendo da polaridade do solvente, mas são sempre significativamente mais fracas que as ligações covalentes. Em uma solução aquosa a 25°C, a energia térmica disponível pode ser da mesma ordem de magnitude, à medida que a força dessas interações fracas e a interação entre as moléculas do soluto e do solvente (água) são quase tão favoráveis quanto as interações soluto-soluto. Conseqüentemente, pontes de hidrogênio e interações iônicas, hidrofóbicas e de van der Waals são continuamente formadas e rompidas.

Tabela 4-4 – Quatro tipos de interações não-covalentes ("fracas") entre biomoléculas dissolvidas em solvente aquoso

Pontes de hidrogênio	
Entre grupos neutros	
Entre ligações peptídicas	
Interações iônicas	
Atração	
Repulsão	
Interações hidrofóbicas	
Interações de van der Waals	Quaisquer dois átomos muito próximos entre si

Embora esses quatro tipos de interações sejam individualmente fracos, quando comparados com as ligações covalentes, o efeito cumulativo de muitas dessas interações com uma proteína ou um ácido nucléico pode ser muito significativo. Por exemplo, a ligação não-covalente de uma enzima com seu substrato pode envolver várias pontes de hidrogênio e uma ou mais interações iônicas, bem como interações hidrofóbicas e de van der Waals. A formação de cada uma dessas ligações fracas contribui para a diminuição real da energia livre do sistema. A estabilidade de uma interação não-covalente, tal como a de uma molécula pequena ligada por ponte de hidrogênio a uma macromolécula, pode ser calculada a partir da energia de ligação. A estabilidade, medida pela constante de equilíbrio (veja adiante) da reação de ligação, varia *exponencialmente* com a energia de ligação. A dissociação de duas biomoléculas associadas não-covalentemente por meio de múltiplas interações fracas (como, por exemplo, uma enzima e seu substrato ligado) requer que todas essas interações sejam rompidas ao mesmo tempo. Como essas interações flutuam aleatoriamente, a ruptura simultânea é muito improvável. Assim, a estabilidade molecular conferida por duas, cinco ou vinte interações fracas é, por conseguinte, muito maior que a esperada intuitivamente pela simples adição das pequenas energias de ligação.

Macromoléculas tais como as proteínas, o DNA e o RNA apresentam tantos locais potencialmente favoráveis para a ocorrência de pontes de hidrogênio ou interações iônicas, van der Waals e hidrofóbicas, que o efeito cumulativo dessas pequenas forças de ligação é enorme. No caso das macromoléculas, a estrutura mais estável (nativa) é usualmente aquela na qual as possibilidades de formação de ligações fracas é máxima. Esse princípio determina, também, o enovelamento de uma simples cadeia polipeptídica ou polinucleotídica em sua estrutura tridimensional. A ligação de um antígeno a um anticorpo específico depende do efeito cumulativo de muitas interações fracas. Conforme já salientado anteriormente, a energia liberada quando uma enzima se liga não-covalentemente ao seu substrato é a principal fonte do poder catalítico de uma enzima. A ligação de um hormônio ou de um neurotransmissor a seu receptor celular protéico é o resultado de interações fracas. Uma conseqüência do grande tamanho das enzimas e dos receptores é que a sua extensa superfície proporciona muitas possibilidades de interações fracas. Em nível molecular, a complementaridade entre biomoléculas que interagem reflete a complementaridade e as interações fracas entre grupos polares, carregados e hidrofóbicos na superfície das moléculas.

Os solutos afetam as propriedades coligativas das soluções aquosas

Solutos de qualquer tipo, quando dissolvidos, afetam certas propriedades físicas do solvente água: sua pressão de vapor, ponto de ebulição, ponto de fusão (ponto de congelamento) e pressão osmótica. Estas são as chamadas **propriedades coligativas** ("coligadas"), uma vez que o efeito do soluto sobre essas quatro propriedades tem a mesma base: a concentração da água é menor em soluções que em água pura. O efeito da concentração do soluto nas propriedades coligativas da água não depende das propriedades químicas do soluto; ele depende apenas do *número* de

partículas do soluto (moléculas, íons) em uma dada quantidade de água. Um composto como o NaCl, que se dissocia em solução, apresenta um efeito duas vezes maior na pressão osmótica, por exemplo, que o mesmo número de moles de glicose, um soluto que não se dissocia.

Os solutos dissolvidos alteram as propriedades coligativas das soluções aquosas, diminuindo a concentração efetiva da água. Por exemplo, quando uma fração significativa de moléculas na superfície de uma solução aquosa não é a água, mas o solutol, a tendência de as moléculas de água passarem para a fase vapor — pressão de vapor — diminui (Fig. 4-9). Similarmente, a tendência de as moléculas de água passarem da fase aquosa para a superfície de um cristal de gelo em formação é reduzida quando algumas das moléculas que colidem com o cristal são solutos, e não água. Nesse caso, a solução se congelará mais lentamente que a água pura e em uma temperatura mais baixa. Para uma solução aquosa 1,00 molal (1,00 mol de soluto por 1.000g de água) de um soluto ideal, não-volátil e que não se dissocia, a uma pressão de 101kPa (1 atm), o ponto de congelamento é 1,86°C menor e o ponto de ebulição é 0,543°C maior que os da água pura. Para uma solução 0,100 molal, as mudanças são um décimo maiores.

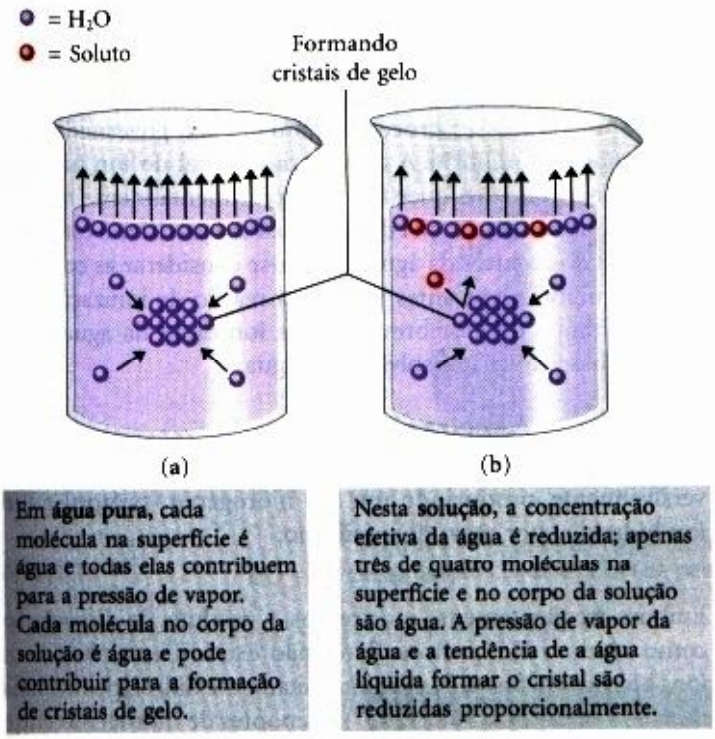


Figura 4-9 – Solutos alteram as propriedades coligativas das soluções. (**a**) A uma pressão de 101kPa (1 atm), a água pura ferve a 100°C e se congela a 0°C. (**b**) A presença de moléculas de soluto reduz a probabilidade de as moléculas da água deixarem a solução e passarem para a fase gasosa, reduzindo, assim, a pressão de vapor da solução e aumentando o ponto de ebulição. Similarmente, a probabilidade de uma molécula de água colidir e associar-se a um cristal de gelo em formação é reduzida quando algumas das moléculas que colidem com o cristal são moléculas de solutos, e não água. O efeito é a diminuição do ponto de congelamento.

As moléculas de água tendem a se movimentar de uma região de maior concentração de água para uma de menor concentração de água. Quando duas soluções aquosas diferentes são separadas por uma membrana semipermeável (que permite a passagem das moléculas da água, mas não as do soluto), as moléculas de água que se difundem da região de concentração de água mais alta para a de concentração de água mais baixa produzem uma pressão osmótica (Fig. 4.10). Essa pressão, Π, medida como sendo a força necessária para resistir ao movimento da água (Fig. 4-10c), é dada de uma maneira aproximada pela equação de van't Hoff:

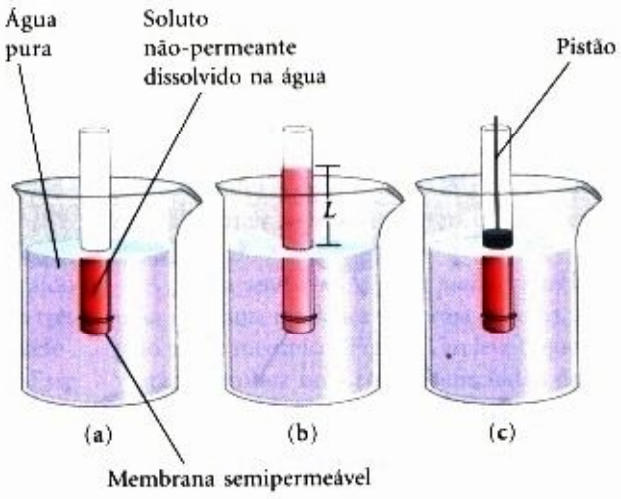


Figura 4-10 – Osmose e medida da pressão osmótica. (**a**) Estado inicial. O tubo contém uma solução aquosa, o béquer contém água pura e a membrana semipermeável permite a passagem de água, mas não a de soluto. A água do béquer flui para o interior do tubo, para igualar a sua concentração, através da membrana. (**b**) Estado final. A água fluiu para a solução do composto não-permeante, diluindo-a e aumentando a coluna de água dentro do tubo. No equilíbrio, a força da gravidade, operando na solução do tubo, contrabalança exatamente a tendência de a água se mover para o interior do tubo, onde a sua concentração é menor. (**c**) A pressão osmótica (Π) é medida como sendo a força que deve ser aplicada para retornar a solução no tubo ao nível da água no béquer. Essa força é proporcional à altura *h* da coluna em (**b**).

$$\Pi = icRT$$

onde R é a constante dos gases, e T, a temperatura absoluta. O termo ic é a **osmolaridade** da solução, o produto entre a concentração molar do soluto c e o fator i de van't Hoff, que é a medida do grau de dissociação do soluto em duas ou mais espécies iônicas. Em soluções diluídas de NaCl, o soluto se dissocia completamente em Na^+ e Cl^-, dobrando o número de partículas de soluto, e $i = 2$. Para solutos que não se dissociam, i é sempre igual a 1. Para soluções que contêm vários (n) solutos, Π é o somatório das contribuições de cada espécie:

$$\Pi = RT(i_1c_1 + i_2c_2 + \cdots + i_nc_n)$$

Osmose, movimento da água através de uma membrana semipermeável impelido por diferenças na pressão osmótica, é um importante fator na vida da maioria das células. As membranas plasmáticas são mais permeáveis à água que a maioria de outras moléculas pequenas, íons e macromoléculas. Essa permeabilidade é, em parte, devida a uma simples difusão da água através da bicamada lipídica e a canais de proteínas (aquaporinas) existentes na membrana, cuja seletividade permite a passagem de água. Soluções que apresentam a mesma osmolaridade são chamadas de **isotônicas**. Rodeada por uma solução isotônica, a célula nem ganha nem perde água (Fig. 4-11). Em uma solução **hipertônica**, que apresenta uma osmolaridade maior que a do citosol, a célula murcha à medida que a água flui para a solução. Em uma solução **hipotônica** (de osmolaridade menor), a célula entumece; se não suportada por uma parede celular, eventualmente se rompe. As células geralmente contêm concentrações mais altas de biomoléculas e íons que os seus circunvizinhos, de maneira que a pressão osmótica faz com que a água flua para dentro das células. Se não contrabalançado de alguma maneira, esse movimento de água para dentro distende a membrana plasmática e causa o rompimento da célula (lise osmótica).

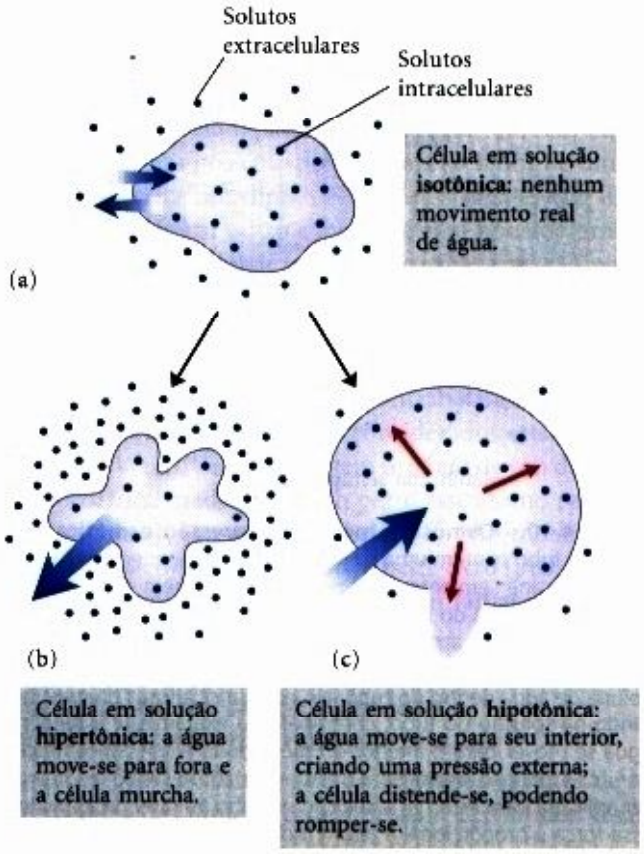


Figura 4-11 – O efeito da osmolaridade extracelular no movimento de água através da membrana plasmática. Quando uma célula em equilíbrio osmótico com seu meio circunvizinho (isto é, em meio isotônico) (**a**) é transferida para uma solução hipertônica (**b**) ou hipotônica (**c**), a água move-se através da membrana plasmática na direção em que tende a igualar a osmolaridade dentro e fora da célula.

Três mecanismos foram desenvolvidos para impedir essa catástrofe. Nas bactérias e plantas, a membrana plasmática é circundada por uma parede celular não-expansível, de rigidez e força suficientes para resistir à pressão osmótica e impedir a lise osmótica. Certos protozoários de água doce, que vivem em meio altamente hipotônico, têm uma organela (vacúolo contrátil) que bombeia a água para fora da célula. Nos animais multicelulares, o plasma sangüíneo e o fluido intersticial (fluido extracelular dos tecidos) são mantidos em uma osmolaridade próxima à do citoplasma. A elevada concentração de albumina e outras proteínas no plasma sangüíneo contribui para a sua osmolaridade. As células também bombeiam ativamente íons, tais como o Na^+, para o fluido intersticial, a fim de permanecerem em equilíbrio osmótico com os seus circunvizinhos.

Uma vez que o efeito dos solutos na osmolaridade depende do *número* de partículas dissolvidas, e não de suas *massas*, macromoléculas (proteínas, ácidos nucléicos, polissacarídeos) apresentam menor efeito na osmolaridade de uma solução que tem uma igual massa de seus componentes monoméricos. Por exemplo, um *grama* de um polissacarídeo composto por 1.000 unidades de glicose tem o mesmo efeito que um *miligrama* de glicose. Um efeito do armazenamento de combustível na forma de polissacarídeo (amido ou glicogênio), em vez de glicose ou outro açúcar simples, é a prevenção de um enorme aumento da pressão osmótica dentro da célula de armazenamento.

As plantas usam a pressão osmótica para alcançar a rigidez mecânica. A elevada concentração de soluto nos vacúolos empurra água para dentro da célula (veja Fig. 2-10). A pressão osmótica resultante contra a parede da célula (pressão de turgor) enrijece a célula, o tecido e o corpo da planta. Quando a alface na sua salada murcha, é porque a perda de água reduziu a pressão de turgor. Alterações dramáticas na pressão de turgor produzem o movimento de partes da planta, como observado em plantas sensíveis ao toque, tais como a vênus-pega-mosca e a mimosa (Adendo 4-1).

A osmose também apresenta conseqüências para os protocolos de laboratório. As mitocôndrias, os cloroplastos e os lisossomos, por exemplo, são recobertos por membranas semipermeáveis. Durante o isolamento dessas organelas a partir de células rompidas (veja Fig. 2-20), os bioquímicos devem fazer o fracionamento em soluções isotônicas. As soluções-tampão, comumente usadas em fracionamentos celulares, contêm uma concentração suficiente (cerca de 0,2M) de sacarose ou algum outro soluto inerte para proteger as organelas da pressão osmótica.

Ionização da Água, Ácidos Fracos e Bases Fracas

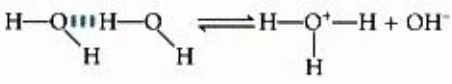
Embora muitas das propriedades solventes da água possam ser explicadas em função das características da molécula de H_2O eletricamente não-carregada, também é necessário levar em consideração o pequeno grau de ionização da água em íons hidrogênio (H^+) e hidroxila (OH^-). Como todas as reações reversíveis, a ionização da água pode ser descrita por uma constante de equilíbrio. Quando ácidos ou bases fracos são dissolvidos na água, eles produzem H^+ por ionização; bases consomem H^+ para ser protonadas. Esses processos também são governados por constantes de equilíbrio. A concentração total do íon hidrogênio originário de qualquer fonte é experimentalmente mensurável e expressa como o pH da solução. Para predizer o estado de ionização dos solutos na água, devem-se considerar as constantes de equilíbrio relevantes para cada reação de ionização. Vamos, portanto, discutir brevemente a ionização da água e dos ácidos e bases fracos dissolvidos na água.

A água pura é ligeiramente ionizada

As moléculas de água têm pequena tendência para se ionizar reversivelmente, produzindo um íon hidrogênio (próton) e um íon hidroxila, por meio do equilíbrio:

$$H_2O \rightleftharpoons H^+ + OH^- \qquad (4\text{-}1)$$

Embora freqüentemente mostremos o produto de dissociação como sendo o H^+, prótons livres não existem em solução; os íons hidrogênio formados são imediatamente hidratados até **íons hidrônio** ou **hidroxônio** (H_3O^+). As pontes de hidrogênio entre as moléculas de água tornam a hidratação dos prótons dissociados virtualmente instantânea.



A ionização da água pode ser medida por meio da sua condutividade elétrica; a água pura transporta a corrente elétrica à medida que o H^+ migra em direção ao cátodo e o OH^- em direção ao ânodo. O movimento dos íons hidrônio e hidróxido no campo elétrico é anormalmente rápido, comparado com o de outros íons tais como Na^+, K^+ e Cl^-. Essa alta mobilidade iônica resulta de uma espécie de "salto de próton", mostrado na Figura 4-12. Nenhum próton individual se movimenta para muito longe do corpo da solução, mas uma série de pulos de prótons entre moléculas de água ligadas por pontes de hidrogênio causa o movimento real do próton em uma longa distância, em um intervalo de tempo consideravelmente pequeno. Como resultado da alta mobilidade iônica do H^+ (e OH^-,

Adendo 4-1

Resposta ao toque nas plantas: um evento osmótico

As folhas altamente especializadas da vênus-pega-mosca (*Dionaea muscipula*) fecham-se rapidamente em resposta a um leve toque de um inseto ingênuo, aprisionando-o para futura digestão. Atraído pelo néctar da superfície da folha, o inseto toca três pêlos (tricomas) mecanicamente sensíveis, acionando a armadilha que fecha a folha (Fig. 1). Esse movimento da folha é produzido por mudanças súbitas (menos de 0,5s) na pressão de turgor das células mesófilas (células mais internas da folha), provavelmente alcançadas pela saída de íons K^+ das células e pelo efluxo da água, causado pela osmose. As glândulas digestivas da superfície das folhas liberam enzimas que extraem os nutrientes do inseto.

A planta sensitiva (*Mimosa pudica*) também sofre uma marcante mudança na forma da folha, acionada pelo toque mecânico (Fig. 2). Um leve toque ou uma vibração produz uma rápida murchidão das folhas, como resultado da dramática redução na pressão de turgor das células da base de cada folículo e folha. Como no caso da vênus-pega-mosca, a queda da pressão de turgor resulta da liberação de K^+, seguida pelo efluxo da água.

(a) (b)

Figura 1 – Resposta ao toque na vênus-pega-mosca. Ao se aproximar de uma folha aberta, uma mosca (**a**) é aprisionada para ser digerida pela planta (**b**).

(a) (b)

Figura 2 – Os folículos da planta sensitiva, em forma de pena, (**a**) fecham-se e murcham (**b**), protegendo a planta contra danos estruturais causados pelo vento.

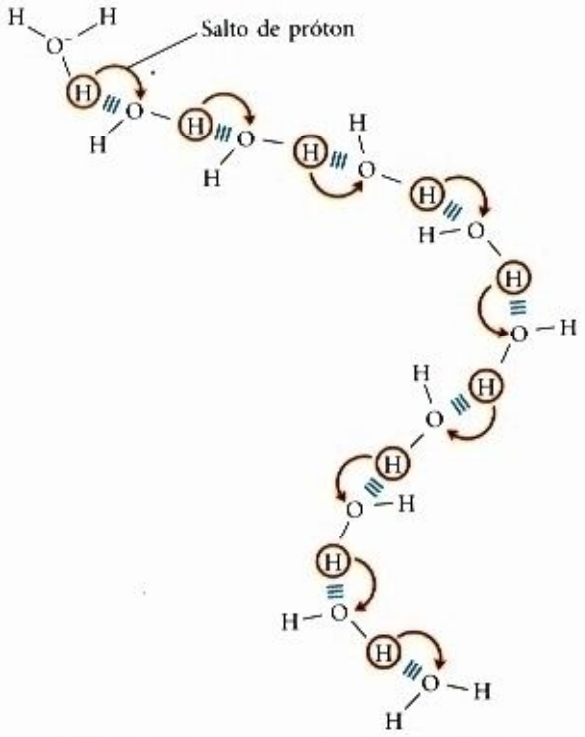


Figura 4-12 – Saltos de prótons. Pequenos "saltos" de prótons em uma série de moléculas de água ligadas por pontes de hidrogênio realizam um movimento real extremamente rápido de um próton em uma longa distância. À medida que o íon hidrônio (acima, à esquerda) cede um próton, uma molécula de água a uma certa distância (abaixo, à direita) aceita um, tornando-se um íon hidrônio. O salto de prótons é muito mais rápido do que a verdadeira difusão e explica a mobilidade consideravelmente elevada dos íons hidrogênio comparada à de outros cátions monovalentes tais como Na^+ ou K^+.

que também se move rapidamente por meio de saltos de prótons, mas na direção oposta), as reações ácido-base, em soluções aquosas, em geral são excepcionalmente rápidas. Muito provavelmente, os saltos de prótons também desempenham uma função nas reações de transferência de prótons em sistemas biológicos.

Uma vez que a ionização reversível é crucial para o papel da água nas funções celulares, devemos expressar a extensão da ionização da água em termos quantitativos. Uma breve revisão de algumas propriedades das reações químicas reversíveis mostrará como isso pode ser feito.

A posição de equilíbrio de qualquer reação química é dada pela sua **constante de equilíbrio**, K_{eq} (algumas vezes expressa apenas por K). Para a reação genérica:

$$A + B \rightleftharpoons C + D \qquad (4\text{-}2)$$

uma constante de equilíbrio pode ser definida em termos da concentração dos reagentes (A e B) e produtos (C e D), presentes no equilíbrio:

$$K_{eq} = \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

Estritamente falando, os termos de concentração devem ser substituídos pelas *atividades* ou concentrações efetivas em soluções não-ideais, de cada espécie. Exceto em trabalhos muito precisos, a constante de equilíbrio pode ser obtida aproximadamente pela medida das *concentrações* no equilíbrio. Por razões que fogem aos objetivos desta discussão, as constantes de equilíbrio não têm dimensões. Entretanto, vamos conservar a unidade de concentração (M) nas expressões de equilíbrio para lembrar que molaridade é a unidade de concentração usada para calcular K_{eq}.

A constante de equilíbrio é fixa e característica para uma dada reação química a uma temperatura específica. Ela define a composição da mistura no equilíbrio, independentemente das quantidades iniciais dos reagentes e produtos. Reciprocamente, pode-se calcular a constante de equilíbrio para uma dada reação a uma dada temperatura, se as concentrações de equilíbrio de todos os reagentes e produtos forem conhecidas. Vamos mostrar, em um capítulo posterior, que a variação de energia livre padrão (ΔG°) está diretamente relacionada com a K_{eq}.

A ionização da água é expressa por uma constante de equilíbrio

O grau de ionização da água no equilíbrio é pequeno (Eq. 4-1); a 25°C, duas entre 10^9 moléculas em água pura está ionizada a qualquer instante. A constante de equilíbrio para a ionização reversível da água (Eq. 4-1) é:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} \qquad (4\text{-}3)$$

Em água pura a 25°C, a concentração da água é 55,5M (valor em gramas de H_2O em um litro de água dividido pela sua massa molecular em gramas: (1.000g/L)/(18,015g/mol)), e essencialmente constante em relação à concentração extremamente baixa dos íons H^+ e OH^-, da ordem de 1×10^{-7}M. Dessa forma, podemos substituir 55,5M na expressão da constante de equilíbrio (Eq. 4-3) para obter:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{55,5}$$

que rearranjada fica:

$$(55,5M)(K_{eq}) = [H^+][OH^-] = K_w \qquad (4\text{-}4)$$

onde K_w designa o produto $(55,5M)(K_{eq})$, que corresponde ao **produto iônico da água** a 25°C.

O valor para K_{eq} determinado por medidas de condutividade elétrica da água pura é $1,8 \times 10^{-16}$M, a 25°C. Substituindo-se esse valor na Equação 4-4, obtemos o produto iônico da água:

$$K_w = [H^+][OH^-] = (55,5M)(1,8 \times 10^{-16}M) = 1,0 \times 10^{-14}M^2$$

Assim, o produto $[H^+][OH^-]$ em soluções aquosas a 25°C é sempre igual a $1 \times 10^{-14}M^2$. Quando as concentrações de H^+ e OH^- são exatamente iguais, como na água pura, a solução é considerada estar em **pH neutro**. Nesse pH, as concentrações de H^+ e OH^- podem ser calculadas a partir do produto iônico da água, como segue:

$$K_w = [H^+][OH^-] = [H^+]^2$$

Resolvendo para $[H^+]$ obtemos:

$$[H^+] = \sqrt{K_w} = \sqrt{1 \times 10^{-14}M^2}$$

$$[H^+] = [OH^-] = 10^{-7}M$$

Como o produto iônico da água é constante, sempre que $[H^+]$ for maior que 1×10^{-7}M, a $[OH^-]$ precisa ser menor que 1×10^{-7}M, e vice-versa. Quando a concentração de $[H^+]$ é muito alta, como em uma solução de ácido clorídrico, a concentração de $[OH^-]$ deve ser muito baixa. Do produto iônico da água, podemos calcular a concentração de $[H^+]$ se conhecermos a concentração de $[OH^-]$ e vice-versa (Adendo 4-2).

A escala de pH designa as concentrações de H^+ e OH^-

O produto iônico da água, K_w, é a base para a **escala de pH** (Tabela 4-5). Ela é um meio conveniente para designar a concentração de H^+ (e, portanto, de OH^-) em qualquer solução aquosa entre H^+ 1,0M e OH^- 1,0M. O termo **pH** é definido pela expressão:

$$pH = \log \frac{1}{[H^+]} = -\log [H^+]$$

Adendo 4-2

O produto iônico da água: dois problemas ilustrativos

O produto iônico da água possibilita calcular a concentração de H^+ para uma dada concentração de OH^- e vice-versa; isso é mostrado nos problemas a seguir.

1. Qual é a concentração de H^+ em uma solução de NaOH 0,1M?

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

Resolvendo para $[H^+]$, obtemos:

$$[H^+] = \frac{K_w}{[OH^-]} = \frac{1 \times 10^{-14}M^2}{0{,}1M} = \frac{10^{-14}M^2}{10^{-1}M}$$
$$= 10^{-13}M \text{ (resposta)}$$

2. Qual é a concentração de OH^- em uma solução na qual a concentração de H^+ é 0,00013M?

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

Resolvendo para $[OH^-]$

$$[OH^-] = \frac{K_w}{[H^+]} = \frac{1 \times 10^{-14}M^2}{0{,}00013M} = \frac{10^{-14}M^2}{1{,}3 \times 10^{-4}M}$$
$$= 7{,}7 \times 10^{-11}M \text{ (resposta)}$$

Tabela 4-5 – A escala de pH

$[H^+]$ (M)	pH	$[OH^-]$ (M)	pOH*
10^0 (1)	0	10^{-14}	14
10^{-1}	1	10^{-13}	13
10^{-2}	2	10^{-12}	12
10^{-3}	3	10^{-11}	11
10^{-4}	4	10^{-10}	10
10^{-5}	5	10^{-9}	9
10^{-6}	6	10^{-8}	8
10^{-7}	7	10^{-7}	7
10^{-8}	8	10^{-6}	6
10^{-9}	9	10^{-5}	5
10^{-10}	10	10^{-4}	4
10^{-11}	11	10^{-3}	3
10^{-12}	12	10^{-2}	2
10^{-13}	13	10^{-1}	1
10^{-14}	14	10^0 (1)	0

Algumas vezes, a expressão pOH é empregada para expressar a basicidade ou a concentração de OH^- de uma solução; o pOH é definido pela expressão pOH = –log $[OH^-]$, análoga à expressão para o pH. Note que, para todos os casos pH + pOH = 14.

O símbolo p denota "logaritmo negativo de". Para uma solução precisamente neutra a 25°C, na qual a concentração de íons hidrogênio é 1×10^{-7}M, o pH pode ser calculado como segue:

$$\text{pH} = \log \frac{1}{1{,}0 \times 10^{-7}} = \log (1{,}0 \times 10^7) = \log 1{,}0 + \log 10^7 = 0 + 7 = 7$$

O valor 7 para o pH de uma solução precisamente neutra não é escolhido arbitrariamente; ele deriva do valor absoluto do produto iônico da água a 25°C que, por coincidência conveniente, é um número inteiro. As soluções que têm pH maior que 7 são alcalinas ou básicas; a concentração de OH^- é maior que a de H^+. Por outro lado, soluções que têm pH menor que 7 são ácidas.

Note que a escala de pH é logarítmica, não aritmética. Dizer que duas soluções diferem por uma unidade de pH significa que uma dessas soluções tem uma concentração de H^+ dez vezes maior que a da outra, porém isso não nos diz nada sobre o valor absoluto dessa diferença. A Figura 4-13 mostra o pH de alguns fluidos aquosos comuns. Um refrigerante do tipo cola (pH 3,0) ou vinho tinto (pH 3,7) tem uma concentração de H^+ aproximadamente 10.000 vezes maior que a do sangue (pH 7,4).

O pH de uma solução aquosa pode ser medido aproximadamente, usando-se vários corantes indicadores, como o litmus, a fenolftaleína e o fenol vermelho, que sofrem uma mudança na cor sempre que um próton se dissocia da molécula do corante. Determinações precisas do pH em laboratórios químicos ou clínicos,

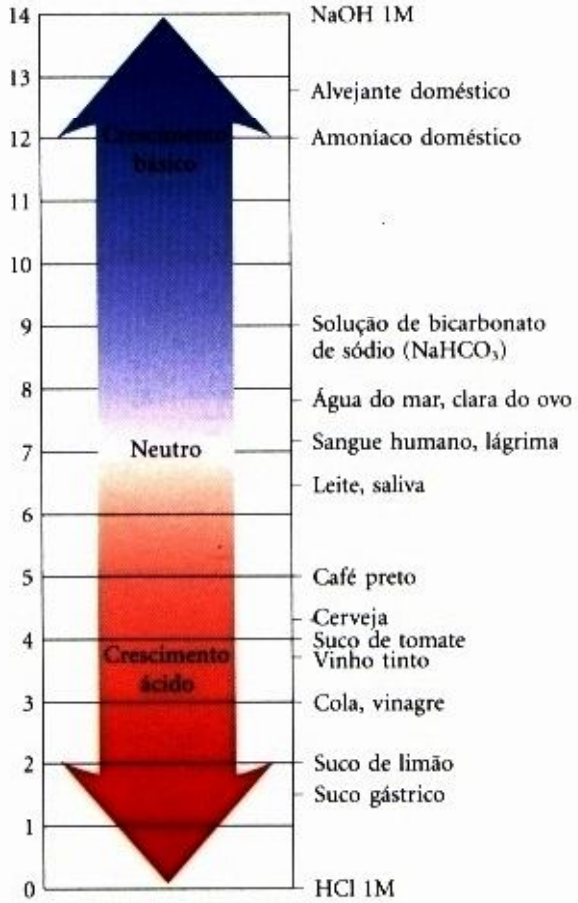


Figura 4-13 – O pH de alguns fluidos aquosos.

são feitas com um elétrodo de vidro, que é seletivamente sensível à concentração de H^+, mas insensível à de Na^+, K^+ e outros cátions. Em um aparelho medidor de pH (pHmetro), o sinal elétrico emitido por esse elétrodo é amplificado e comparado com o sinal gerado por uma solução cujo pH é conhecido com precisão.

A medida de pH é um dos procedimentos mais importantes e mais freqüentes em bioquímica. O pH afeta a estrutura e a atividade das macromoléculas biológicas; por exemplo, a atividade catalítica das enzimas depende fortemente do pH (veja Fig. 4-19). As medidas de pH do sangue e da urina são comumente empregadas no diagnóstico médico. O pH do plasma sangüíneo de pessoas com diabetes grave, por exemplo, é freqüentemente menor que o valor normal de 7,4; essa condição é chamada de acidose. Em outros estados patológicos, o pH do sangue é maior que o normal, e essa condição é conhecida como alcalose.

Ácidos fracos e bases fracas têm constantes de dissociação características

O ácido clorídrico, o ácido sulfúrico e o ácido nítrico, comumente chamados de ácidos fortes, estão completamente ionizados quando em soluções aquosas diluídas; as bases fortes NaOH e KOH também estão completamente ionizadas. O maior interesse dos bioquímicos são as propriedades dos ácidos e bases fracos — aqueles que não estão completamente ionizados quando dissolvidos na água. Eles são muito comuns nos sistemas biológicos e têm importantes papéis no metabolismo e na sua regulação. O comportamento de soluções aquosas dos ácidos e bases fracos será mais bem compreendido, se definirmos primeiro alguns termos.

Os ácidos podem ser definidos como doadores de prótons, e as bases, como aceptoras de prótons. Um doador de prótons e seu aceptor correspondente constituem um **par ácido-base conjugado** (Fig. 4-14). O ácido acético (CH_3COOH), um doador de prótons, e o ânion acetato (CH_3COO^-), o correspondente aceptor de prótons, constituem o par ácido-base conjugado, relacionados pela reação reversível

$$CH_3COOH \rightleftharpoons H^+ + CH_3COO^-$$

Cada ácido tem uma tendência característica de perder o seu próton em solução aquosa. Quanto mais forte o ácido, maior a tendência para perder o seu próton. A tendência de qualquer ácido (HA) de perder um próton e formar a sua base conjugada (A^-) é definida pela constante de equilíbrio (K_{eq}) da reação reversível

$$HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$$

que é:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = K_a$$

As constantes de equilíbrio para as reações de ionização são usualmente chamadas de **constantes de dissociação**, geralmente designadas K_a. As constantes de dissociação de alguns ácidos são mostradas na Figura 4-14. Ácidos mais fortes, como o fosfórico e o carbônico, têm constantes de dissociação maiores; os ácidos mais fracos, como o monoidrogeniofosfato (HPO_4^{2-}), têm constantes de dissociação menores.

Na Figura 4-14 também estão incluídos os valores de pK_a, que é análogo ao pH e definido pela equação:

$$pK_a = \log \frac{1}{K_a} = -\log K_a$$

Quanto maior a tendência para dissociar um próton, mais forte é o ácido e menor é o seu pK_a. Como veremos agora, o pK_a de qualquer ácido fraco pode ser determinado muito facilmente.

As curvas de titulação revelam o pK_a dos ácidos fracos

A titulação é usada para determinar a concentração de um ácido em uma dada solução. Um volume conhecido do ácido é titulado com uma solução de uma base forte, usualmente o hidróxido de sódio (NaOH), de concentração conhecida. O hidróxido é adicionado em pequenos volumes até que o ácido seja totalmente consumido (neutralizado), como determinado por um corante indicador ou pelo uso de um pHmetro. A concentração do ácido na solução original pode ser calculada a partir do volume e da concentração do NaOH adicionado.

O gráfico dos valores de pH em função do volume de NaOH adicionado (uma **curva de titulação**) revela o pK_a do ácido fraco. Considere a titulação de uma solução 0,1M de ácido acético (para simplificar designe como HAc) com NaOH 0,1M a 25°C (Fig. 4-15).

Ácidos monopróticos
Ácido acético
($K_a = 1{,}74 \times 10^{-5}$M)

Amônia
($K_a = 5{,}62 \times 10^{-10}$M)

Ácidos dipróticos
Ácido carbônico
($K_a = 1{,}70 \times 10^{-4}$M);
Bicarbonato
($K_a = 6{,}31 \times 10^{-11}$M)

Glicina, carboxila
($K_a = 4{,}57 \times 10^{-3}$M);
Glicina, amino
($K_a = 2{,}51 \times 10^{-10}$M)

Ácidos tripróticos
Ácido fosfórico
($K_a = 7{,}25 \times 10^{-3}$M);
Diidrogênio fosfato
($K_a = 1{,}38 \times 10^{-7}$M);
Monoidrogênio fosfato
($K_a = 3{,}98 \times 10^{-13}$M)

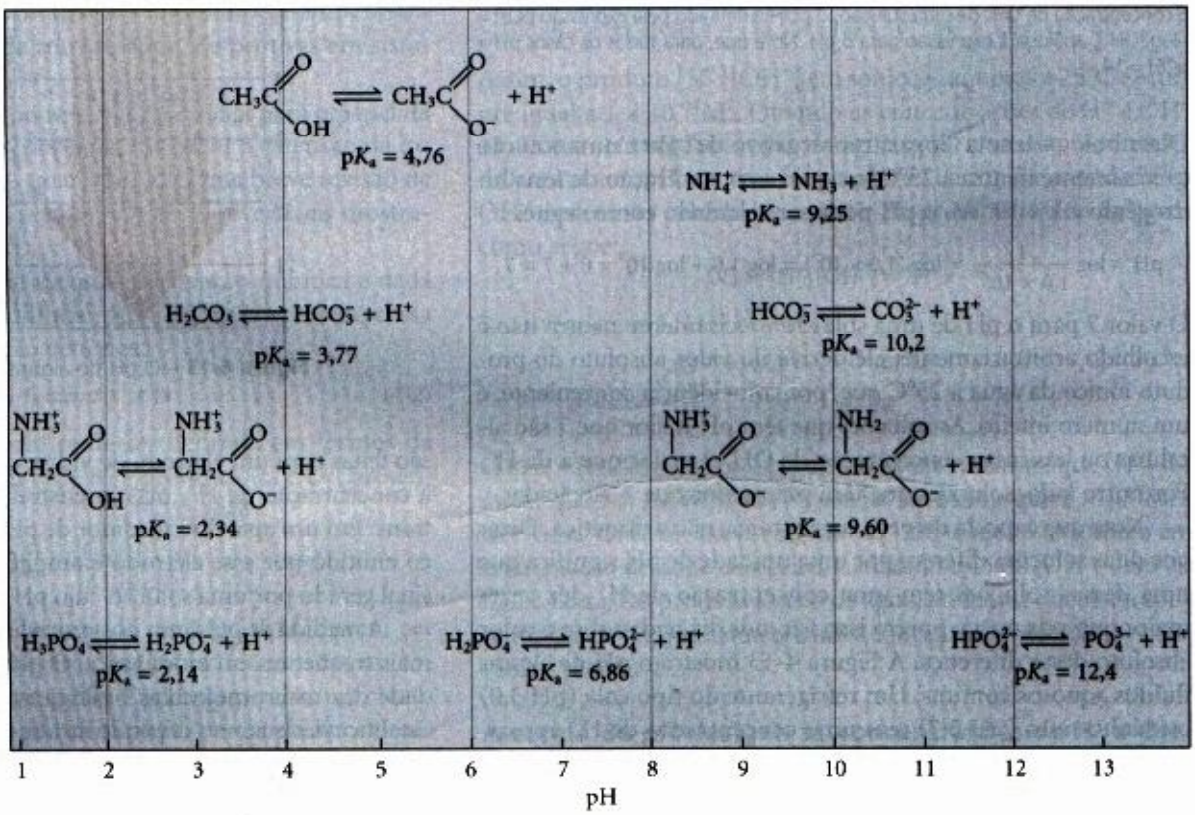


Figura 4-14 – Os pares ácido-base conjugados são constituídos de um doador de prótons e um aceptor de prótons. Alguns compostos, como o ácido acético e a amônia, são monopróticos: podem doar apenas um único próton. Outros são dipróticos (H_2CO_3 e glicina) ou tripróticos (H_3PO_4). As reações de dissociação para cada par são mostradas onde elas ocorrem ao longo da escala de pH. A constante de equilíbrio ou de dissociação (K_a) e seu logaritmo negativo, o pK_a, são mostrados para cada reação.

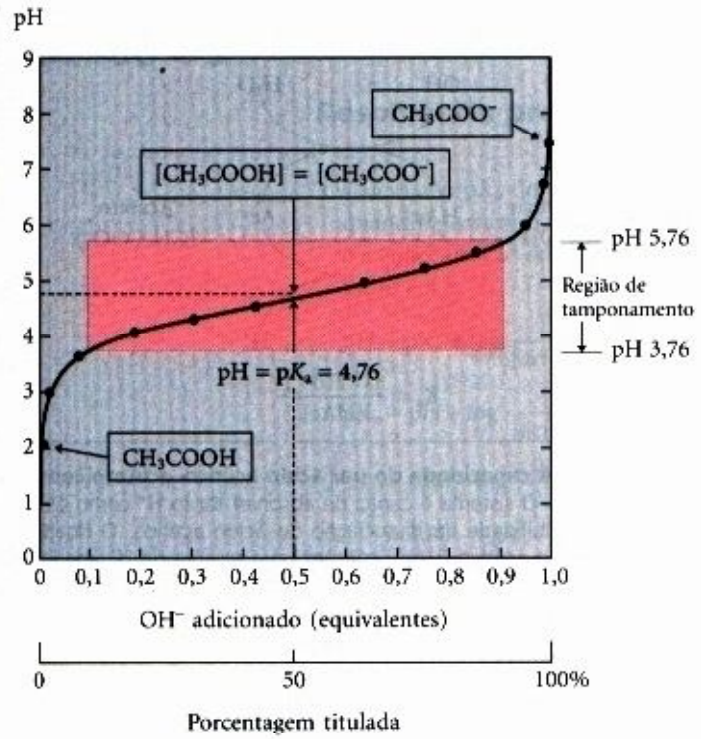


Figura 4-15 – Curva de titulação do ácido acético. Após a adição de um pequeno volume de NaOH à solução de ácido acético, o pH da mistura é medido. Essa operação é repetida até que o ácido seja convertido em sua forma desprotonada, o acetato. O valor de cada adição é lançado em gráfico em função do pH da mistura. Dessa forma, os pontos obtidos constituem a curva de titulação. Nos retângulos são mostradas as formas iônicas predominantes do ácido acético nos pontos designados. No ponto médio da titulação, as concentrações do doador e do aceptor de prótons são iguais, e o pH nesse ponto é numericamente igual ao pK_a. A região sombreada é a região de maior capacidade tamponante útil, geralmente entre 10% e 90% da titulação do ácido fraco.

Dois equilíbrios reversíveis estão envolvidos no processo:

$$H_2O \rightleftharpoons H^+ + OH^- \qquad (4\text{-}5)$$

$$HAc \rightleftharpoons H^+ + Ac^- \qquad (4\text{-}6)$$

O equilíbrio deve-se ajustar simultaneamente às suas constantes de equilíbrio características, que são respectivamente:

$$K_w = [H^+][OH^-] = 1 \times 10^{-14}M^2 \qquad (4\text{-}7)$$

$$K_a = \frac{[H^+][Ac^-]}{[HAc]} = 1{,}74 \times 10^{-5}M \qquad (4\text{-}8)$$

No início da titulação, antes da adição da solução de NaOH, o ácido acético já está ligeiramente ionizado, em uma extensão que pode ser calculada a partir da sua constante de dissociação (Eq. 4-8).

À medida que o NaOH é adicionado gradualmente, o íon OH^- adicionado combina-se com o H^+ livre na solução para formar água, em uma quantidade que satisfaz a relação de equilíbrio da Equação 4-7. Com a remoção do íon H^+, a molécula de HAc dissocia-se, sobretudo para satisfazer a sua própria constante de equilíbrio (Eq. 4-8). Como resultado, à medida que a titulação prossegue com a adição de NaOH, mais e mais HAc ioniza-se, formando Ac^-. No ponto médio da titulação, onde exatamente 0,5 equivalente de NaOH foi adicionado, metade do ácido acético original dissociou-se, de tal forma que a concentração do doador de prótons [HAc] agora se iguala à do aceptor de prótons [Ac^-]. No ponto médio ocorre uma relação importante: o pH da solução equimolar de ácido acético e acetato é exatamente igual ao pK_a do ácido acético (pK_a = 4,76; veja Figs. 4-14, 4-15). Os fundamentos dessa relação, válida para todos os ácidos fracos, logo tornar-se-ão claros.

À medida que a titulação prossegue com a adição de novos volumes de NaOH, o ácido acético não-dissociado remanescente é gradualmente convertido em acetato. O ponto final da titulação ocorre ao redor de pH 7: todo o ácido acético perdeu os seus prótons para íons OH^-, formando H_2O e acetato. Os dois equilíbrios (Eqs. 4-5 e 4-6) coexistem ao longo da titulação, cada um satisfazendo a sua constante de equilíbrio.

A Figura 4-16 compara as curvas de titulação de três ácidos fracos com constantes de dissociação muito diferentes: ácido acético (pK_a = 4,76); diidrogênio fosfato, $H_2PO_4^-$ (pK_a = 6,86) e íon amônio, NH_4^+ (pK_a = 9,25). Embora as curvas de titulação desses ácidos tenham exatamente a mesma forma, elas estão deslocadas ao longo do eixo do pH porque esses ácidos possuem forças diferentes. O ácido acético é o mais forte (perde o seu próton mais rapidamente) porque o seu K_a é o maior (pK_a menor). O ácido acético já está 50% dissociado em pH 4,76. O diidrogênio fosfato perde o seu próton de forma menos rápida, tornando-se 50% dissociado em pH 6,86. O íon amônio é o ácido mais fraco dos três e somente em pH 9,25 atinge 50% de dissociação.

O detalhe mais importante na curva de titulação de um ácido fraco é que ela mostra graficamente que um ácido fraco e o seu ânion — um par ácido-base conjugado — podem funcionar como um tampão.

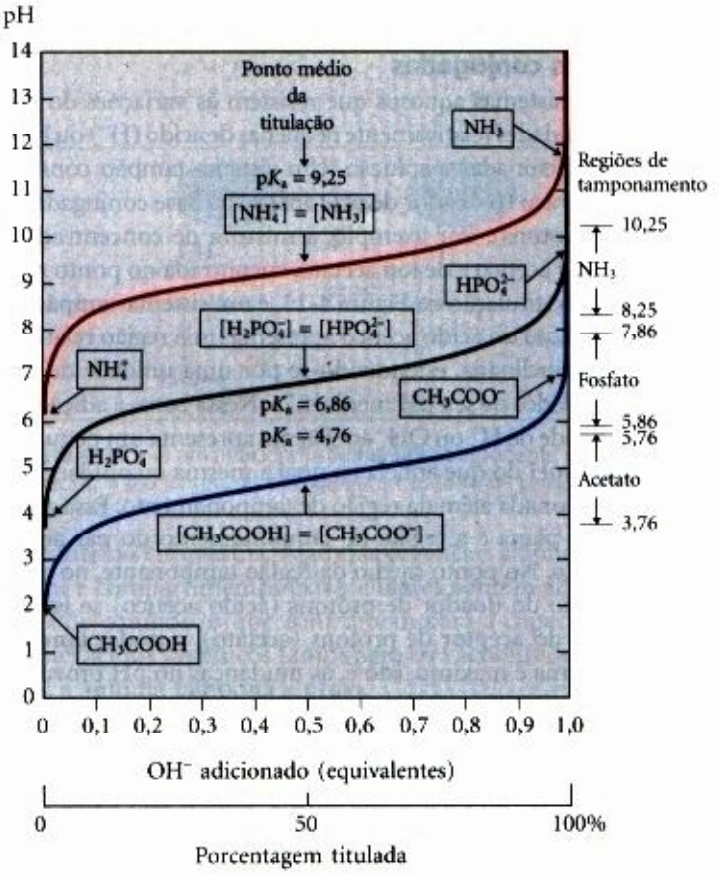


Figura 4-16 – Comparação das curvas de titulação de três ácidos fracos, CH_3COOH, $H_2PO_4^-$ e NH_4^+. As formas iônicas predominantes nos pontos indicados na curva de titulação estão colocadas em retângulos. As regiões de capacidade tamponante estão indicadas à direita. Os pares ácido-base conjugados são tampões efetivos entre, aproximadamente, 10% e 90% da neutralização da espécie doadora de prótons.

Ação Tamponante contra as Variações de pH nos Sistemas Biológicos

Quase todos os processos biológicos são dependentes do pH; uma pequena variação no pH produz uma grande variação na velocidade do processo. Isso é verdade não apenas para muitas reações nas quais o íon H^+ é participante direto, mas também

para aquelas nas quais não há um papel aparente para esses íons. As enzimas que catalisam as reações celulares e muitas das moléculas sobre as quais elas agem possuem grupos ionizáveis com valores de pK_a característicos. Os grupos amino e os grupos carboxila protonados dos aminoácidos e os grupos fosfato dos nucleotídeos, por exemplo, funcionam como ácidos fracos; o seu estado iônico depende do pH do meio circunvizinho. Como mencionado, as interações iônicas estão entre as forças que estabilizam a molécula de uma proteína e permitem que uma enzima reconheça e ligue-se a seu substrato.

As células e os organismos mantêm um pH citosólico constante e específico, geralmente próximo de pH 7, o que mantém as biomoléculas em seu estado iônico ótimo. Em organismos multicelulares, o pH dos fluidos extracelulares também é precisamente regulado. A constância do pH é conseguida primariamente pelos tampões biológicos: misturas de ácidos fracos e suas bases conjugadas.

Descreveremos aqui o equilíbrio de ionização responsável pela ação tamponante e mostraremos a relação quantitativa entre o pH de uma solução tamponada e o pK_a do tampão. A ação tamponante biológica pode ser ilustrada pela descrição do funcionamento dos sistemas-tampão fosfato e carbonato em seres humanos.

Os tampões são misturas de ácidos fracos e suas bases conjugadas

Tampões são sistemas aquosos que resistem às variações do pH quando quantidades relativamente pequenas de ácido (H^+) ou base (OH^-) são adicionadas à solução. Um sistema-tampão consiste de um ácido fraco (o doador de prótons) e sua base conjugada (o aceptor de prótons). Por exemplo, a mistura de concentrações iguais de ácido acético e de íon acetato, encontrada no ponto médio da curva de titulação na Figura 4-15, é um sistema-tampão. A curva de titulação do ácido acético apresenta uma região relativamente pouco inclinada, estendendo-se por uma unidade de pH em ambos os lados de seu pH médio 4,76. Nessa zona, a adição de uma quantidade de H^+ ou OH^- ao sistema apresenta um pequeno efeito sobre o pH do que aquela na qual a mesma quantidade tenha sido adicionada além da região de tamponamento. Essa zona relativamente plana é a região de tamponamento do par ácido acético–acetato. No ponto médio da região tamponante, no qual a concentração do doador de prótons (ácido acético) se iguala exatamente a do aceptor de prótons (acetato), o poder tamponante do sistema é máximo, isto é, as mudanças no pH provocadas pela adição de H^+ ou OH^- são mínimas. Nesse ponto da curva de titulação do ácido acético, o pH é igual ao seu pK_a. O pH do sistema-tampão acetato varia ligeiramente quando uma pequena quantidade de H^+ ou OH^- é adicionada, porém essa variação é muito pequena quando comparada com a variação de pH que resultaria se a mesma quantidade de H^+ ou OH^- fosse adicionada à água pura ou a uma solução de um sal de ácido forte com base forte, como o NaCl, que não tem poder tamponante.

O tamponamento resulta do equilíbrio de duas reações reversíveis que ocorrem em uma solução que contém quantidades quase iguais de um doador e seu aceptor de prótons conjugado. A Figura 4-17 explica como um sistema-tampão funciona. Sempre que H^+ ou OH^- são adicionados a um tampão, o resultado é uma pequena variação na relação das concentrações relativas do ácido fraco e de seu ânion e, conseqüentemente, uma pequena variação no pH. A diminuição da concentração de um dos componentes do sistema é contrabalançada exatamente pelo aumento da outra. A soma das concentrações dos componentes do tampão não varia, apenas a sua relação.

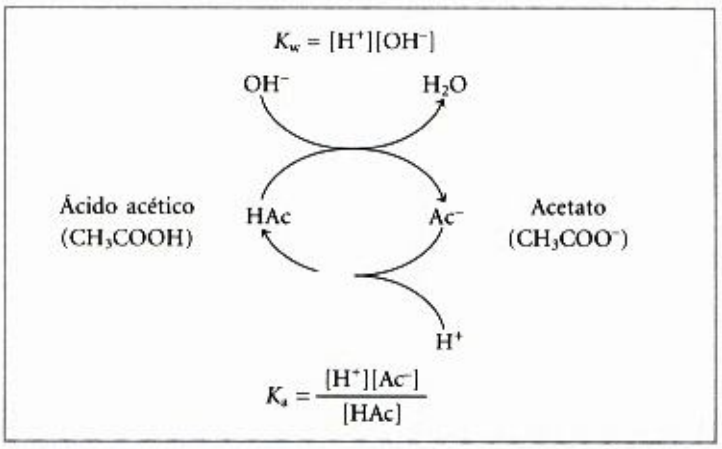


Figura 4-17 – A capacidade do par ácido acético–acetato como solução tampão. O sistema é capaz de absorver tanto H^+ como OH^- por meio da reversibilidade da dissociação do ácido acético. O doador de prótons, o ácido acético (HAc), contém uma reserva de H^+ ligado, que pode ser liberada para neutralizar uma adição de OH^- ao sistema, resultando na formação de H_2O. Isso acontece porque o produto $[H^+][OH^-]$ excede transitoriamente o K_w ($1 \times 10^{-14} M^2$). O equilíbrio rapidamente se ajusta de tal forma que esse produto permaneça igual a $1 \times 10^{-14} M^2$ (a 25°C), reduzindo transitoriamente a concentração de H^+. Como conseqüência, o quociente $[H^+][Ac^-]/[HAc]$ é menor que o K_a, então, o HAc dissocia-se, sobretudo, para restaurar o equilíbrio. De forma semelhante, a base conjugada, Ac^-, pode reagir com os íons H^+ adicionados ao sistema; novamente, as duas reações de ionização entram simultaneamente em equilíbrio. Assim, um par ácido-base conjugado, como o ácido acético e o íon acetato, resiste às variações no pH quando quantidades relativamente pequenas de ácido ou base são adicionadas à solução. A ação tamponante é simplesmente a conseqüência de duas reações reversíveis que ocorrem simultaneamente e atingem seus pontos de equilíbrio de acordo com suas constantes de equilíbrio, K_w e K_a.

Cada par ácido-base conjugado tem uma zona característica de pH na qual ele atua como um tampão efetivo (Fig. 4-16). O par $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ tem um pK_a de 6,86 e, por isso, funciona como um sistema-tampão eficiente no intervalo de pH compreendido entre 5,9 e 7,9. O par NH_4^+/NH_3, com um pK_a de 9,25, pode agir como tampão entre aproximadamente 8,3 e 10,3.

Uma expressão simples relaciona o pH, o p*K* e a concentração do tampão

As curvas de titulação do ácido acético, $H_2PO_4^-$ e NH_4^+ (Fig. 4-16) apresentam formas aproximadamente iguais, sugerindo que essas curvas reflitam uma relação ou lei fundamental. De fato esse é o caso. A forma da curva de titulação de qualquer ácido fraco é descrita pela **equação de Henderson-Hasselbalch**, que é importante para a compreensão da ação tamponante e o balanço ácido-base no sangue e tecidos dos vertebrados. Essa equação é simplesmente uma maneira útil de redefinir a expressão para a constante de dissociação de um ácido. Para a dissociação de um ácido fraco HA em H^+ e A^-, a equação de Henderson-Hasselbalch pode ser derivada da seguinte maneira:

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

Resolvendo primeiramente para $[H^+]$:

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Aplicando-se o logaritmo negativo dos dois lados da igualdade:

$$-\log [H^+] = -\log K_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Substituindo $-\log [H^+]$ por pH, e $-\log K_a$ por pK_a:

$$pH = pK_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Adendo 4-3

Resolvendo problemas usando a equação de Henderson-Hasselbalch

1. Calcular o pK_a do ácido láctico, sabendo-se que, quando a concentração de ácido láctico é 0,010M e a concentração de lactato é 0,087M, o pH da solução é 4,8.

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{lactato}]}{[\text{ácido láctico}]}$$

$$pK_a = pH - \log \frac{[\text{lactato}]}{[\text{ácido láctico}]}$$

$$= 4{,}80 - \log \frac{0{,}087}{0{,}010} = 4{,}80 - \log 8{,}7$$

$$= 4{,}80 - 0{,}94 = 3{,}86 \ (\textit{resposta})$$

2. Calcular o pH de uma mistura que contém ácido acético 0,1M e acetato de sódio 0,2M. O pK_a do ácido acético é 4,76.

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{acetato}]}{[\text{ácido acético}]}$$

$$= 4{,}76 + \log \frac{0{,}2}{0{,}1} = 4{,}76 + 0{,}301$$

$$= 5{,}06 \ (\textit{resposta})$$

3. Calcular a relação entre as concentrações de acetato e de ácido acético requerida para um sistema-tampão com pH 5,3.

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{acetato}]}{[\text{ácido acético}]}$$

$$\log \frac{[\text{acetato}]}{[\text{ácido acético}]} = pH - pK_a$$

$$= 5{,}30 - 4{,}76 = 0{,}54$$

$$\frac{[\text{acetato}]}{[\text{ácido acético}]} = \text{antilog } 0{,}54 = 3{,}47 \ (\textit{resposta})$$

Invertendo-se a fração $-\log [HA]/[A^-]$, inverte-se o sinal e obtém-se a equação de Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Que pode ser escrita em sua forma genérica:

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{aceptor de prótons}]}{[\text{doador de prótons}]}$$

Essa equação descreve as curvas de titulação de todos os ácidos fracos e possibilita deduzir um grande número de relações quantitativas importantes. Por exemplo, ela mostra por que o pK_a de um ácido fraco é igual ao pH da solução no ponto médio da sua titulação. Nesse ponto $[HA] = [A^-]$ e

$$pH = pK_a + \log 1{,}0 = pK_a + 0 = pK_a$$

Conforme mostrado no Adendo 4-3, a equação de Henderson-Hasselbalch também permite (1) calcular o pK_a a partir do pH e da razão molar entre o doador e o aceptor de prótons; (2) calcular o pH a partir do pK_a e da razão molar entre o doador e o aceptor de prótons, e (3) calcular a razão molar entre o doador e o aceptor de prótons, dado o pH e o pK_a.

Os ácidos fracos ou as bases fracas tamponam as células e os tecidos contra as variações de pH

Os fluidos intra e extracelulares dos organismos multicelulares apresentam um pH característico e praticamente constante. A primeira linha de defesa do organismo contra mudanças no pH interno é proporcionada pelos sistemas-tampão. O citoplasma da maioria das células contém altas concentrações de proteínas, que possuem muitos aminoácidos com grupos funcionais que são ou ácidos ou bases fracos. Por exemplo, a cadeia lateral da histidina (Fig. 4-18) tem um pK_a de 6,0; desse modo, proteínas que contêm resíduos de histidina podem tamponar efetivamente ao redor do pH neutro. Nucleotídeos como o ATP, bem como muitos outros metabólitos de baixo peso molecular, apresentam grupos ionizáveis que podem contribuir para o poder tamponante do citoplasma. Algumas organelas altamente especializadas e compartimentos extracelulares contêm altas concentrações de compostos que contribuem para a capacidade tamponante: ácidos orgânicos tamponam os vacúolos de células vegetais; a amônia tampona a urina.

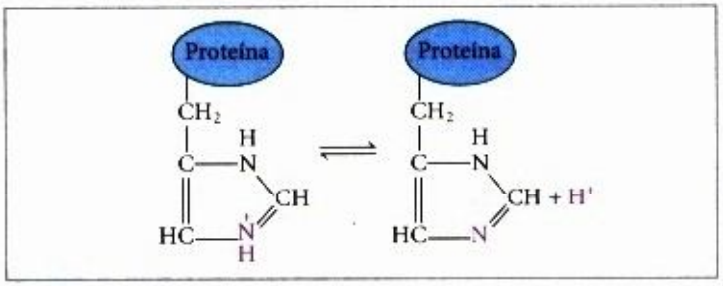


Figura 4-18 – O aminoácido histidina, um componente das proteínas, é um ácido fraco. O pK_a do nitrogênio protonado da cadeia lateral é 6,0.

Dois tampões biologicamente importantes são os sistemas fosfato e bicarbonato. O sistema-tampão fosfato, que age no citoplasma de todas as células, consiste de $H_2PO_4^-$ como doador de prótons e HPO_4^{2-} como aceptor de prótons:

$$H_2PO_4^- \rightleftharpoons H^+ + HPO_4^{2-}$$

O sistema-tampão fosfato tem sua efetividade máxima em um pH próximo do seu pK_a de 6,86 (Figs. 4-14 e 4-16) e, portanto, resiste às variações de pH na região entre 5,9 e 7,9. Assim, ele é um tampão efetivo nos fluidos biológicos. Nos mamíferos, por exemplo, os fluidos extracelulares e a maioria dos compartimentos citoplasmáticos têm um pH na região entre 6,9 e 7,4.

O plasma sangüíneo é tamponado em parte pelo sistema-tampão bicarbonato que consiste de ácido carbônico (H_2CO_3) como doador de prótons e de bicarbonato (HCO_3^-) como aceptor de próton:

$$H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$$

$$K_1 = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

Esse sistema é mais complexo que o outro par ácido-base conjugado, uma vez que um de seus componentes, o ácido carbônico (H_2CO_3), é formado a partir de dióxido de carbono dissolvido (d) e água, por uma reação reversível:

$$CO_2(d) + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3$$

$$K_2 = \frac{[H_2CO_3]}{[CO_2(d)][H_2O]}$$

O ácido carbônico é um gás em condições normais, e a concentração do CO_2 dissolvido é o resultado do equilíbrio do CO_2 da fase gasosa:

$$CO_2(g) \rightleftharpoons CO_2(d)$$

$$K_1 = \frac{[CO_2(d)]}{[CO_2(g)]}$$

O pH do sistema-tampão bicarbonato depende da concentração de H_2CO_3 e HCO_3^-, o doador e o aceptor de prótons, respectivamente. A concentração de H_2CO_3, por sua vez, depende da concentração do CO_2 dissolvido, que depende da concentração do CO_2 na fase gasosa, denominada **pressão parcial** do CO_2. Dessa forma, o pH do tampão bicarbonato exposto a uma fase gasosa é, em última análise, determinado pela concentração de HCO_3^- na fase aquosa e pela pressão parcial de CO_2 na fase gasosa (Adendo 4-4).

O sangue humano normalmente tem um pH próximo a 7,4. Sempre que os mecanismos reguladores do pH falham ou são sobrepujados, como pode acontecer em casos de diabetes grave e não-controlado, nos quais uma superprodução metabólica de ácidos causa acidose, o pH do sangue pode cair para 6,8 ou menos, provocando danos celulares irreparáveis e morte. Em outras doenças, o pH pode elevar-se a níveis letais. Embora muitos aspectos da estrutura celular e seu funcionamento sejam influenciados pelo pH, é a atividade catalítica das enzimas que é especialmente sensível. As enzimas apresentam uma atividade catalítica máxima em um pH característico, chamado de **pH ótimo** (Fig. 4-19). Em cada um dos lados do pH ótimo, a atividade enzimática diminui rapidamente. Assim, uma pequena variação no pH pode provocar uma grande diferença na velocidade de algumas reações cruciais, catalisadas enzimaticamente. O controle biológico do pH das células e dos fluidos corporais é, portanto, de importância central em todos os aspectos das atividades celulares e do metabolismo.

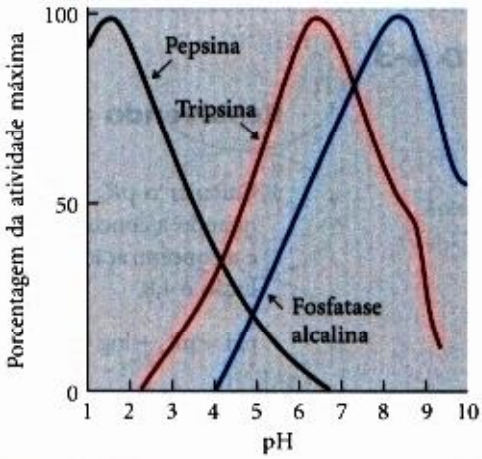


Figura 4-19 – O pH ótimo de algumas enzima. A pepsina é uma enzima digestiva secretada no suco gástrico; a tripsina, uma enzima digestiva que age no intestino delgado; a fosfatase alcalina do tecido ósseo, uma enzima hidrolítica envolvida na mineralização do osso.

Adendo 4-4

Sangue, pulmões e tampão: o sistema-tampão bicarbonato

Nos animais com pulmões, o sistema-tampão bicarbonato é um tampão fisiológico efetivo ao redor de pH 7,4 porque o H_2CO_3 do plasma sangüíneo está em equilíbrio com um reservatório de $CO_2(g)$ de grande capacidade localizado no espaço aéreo dos pulmões. Esse sistema-tampão envolve três equilíbrios reversíveis entre o CO_2 gasoso nos pulmões e o bicarbonato (HCO_3^-) no plasma sangüíneo (Fig. 1). Quando H^+ (do ácido láctico produzido no tecido muscular durante um exercício vigoroso, por exemplo) é adicionado ao sangue, à medida que ele passa através dos tecidos, a reação 1 desloca-se para um novo equilíbrio, em que a concentração de H_2CO_3 é maior. Isso aumenta a concentração de $CO_2(d)$ no sangue (reação 2), que aumenta a pressão de $CO_2(g)$ no espaço aéreo pulmonar (reação 3); o CO_2 extra é expirado.

Reciprocamente, quando o pH do plasma sangüíneo aumenta (em virtude da produção de NH_3 durante o catabolismo de proteínas, por exemplo), ocorrem eventos opostos: a concentração de H^+ no plasma sangüíneo diminui, provocando a dissociação do H_2CO_3 em H^+ e HCO_3^-. Isso causa uma maior dissolução de $CO_2(g)$ dos pulmões, no plasma sangüíneo. A velocidade respiratória, isto é, a velocidade com que o CO_2 é inalado e expirado, pode ajustar rapidamente esses equilíbrios com a finalidade de manter o pH do sangue praticamente constante.

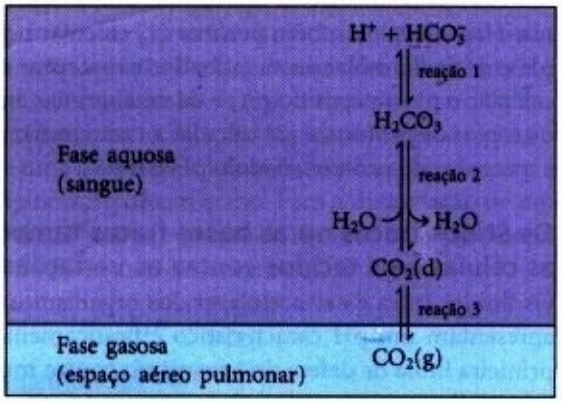
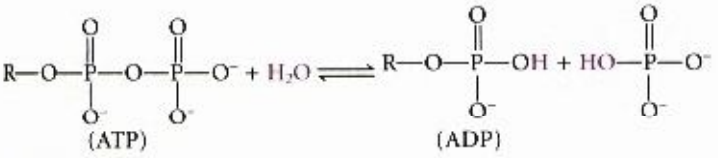


Figura 1 – O CO_2 existente no espaço aéreo dos pulmões está em equilíbrio com o tampão bicarbonato no plasma sangüíneo que atravessa os capilares alveolares. Como a concentração do CO_2 dissolvido pode ser ajustada rapidamente por meio de mudanças na velocidade da respiração pulmonar, o sistema-tampão bicarbonato do sangue está quase sempre em equilíbrio com um grande reservatório de CO_2.

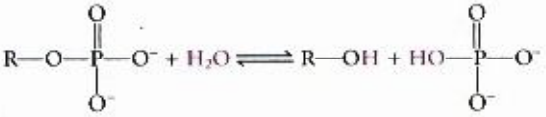
A Água como Reagente

A água não é apenas o solvente no qual ocorrem as reações químicas das células vivas; muito freqüentemente ela é um participante direto dessas reações. A formação de ATP a partir do ADP e de fosfato inorgânico é uma **reação de condensação** (pág. 53) na qual os elementos da água são eliminados (Fig. 4-20a). O reverso dessa reação — a quebra acompanhada pela adição de elementos da água — é uma **reação de hidrólise**. As reações de hidrólise são responsáveis pela despolimerização enzimática de proteínas, carboidratos e ácidos nucléicos ingeridos na alimentação. As reações de hidrólise, catalisadas por enzimas chamadas **hidrolases**, são invariavelmente endergônicas. A formação de polímeros celulares a partir de suas subunidades pela simples reversão da hidrólise seria endergônica e, como tal, não ocorre. Como veremos, as células contornam esse obstáculo termodinâmico acoplando reações de condensação endergônicas aos processos exergônicos, como a quebra de uma ligação anidrido no ATP.



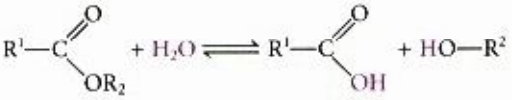
Anidrido fosfórico

(a)



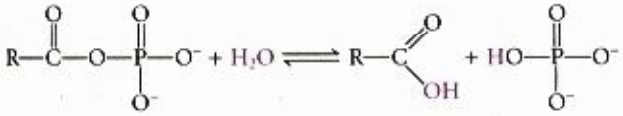
Éster fosfato

(b)



Éster carboxílico

(c)



Anidrido acilfosfórico

(d)

Figura 4-20 – Participação da água em reações biológicas. (**a**) O ATP é um fosfoanidrido formado pela reação de condensação (perda dos elementos da água) entre o ADP e o fosfato. R representa a adenosina monofosfato (AMP). Essa reação de condensação requer energia. A hidrólise (adição dos elementos da água) do ATP libera uma quantidade equivalente de energia. Também são mostradas algumas reações de condensação e hidrólise comuns nos sistemas biológicos (**b**), (**c**) e (**d**).

Você está (esperamos!) consumindo oxigênio à medida que lê este livro. A água e o dióxido de carbono são os produtos finais da oxidação dos combustíveis como a glicose. A reação geral desse processo pode ser resumida pela equação:

$$\underset{\text{Glicose}}{C_6H_{12}O_6} + 6O_2 \rightleftharpoons 6CO_2 + 6H_2O$$

A "água metabólica" assim formada a partir de alimentos sólidos e combustíveis estocados é suficiente para permitir a sobrevivência de alguns animais (esquilo da Mongólia, cangurus, ratos e camelos), em habitats muito secos, sem tomar água por longos períodos.

As plantas verdes e as algas verdes usam a energia luminosa do Sol para quebrar a água no processo da fotossíntese.

$$2H_2O + 2A \xrightarrow{\text{luz}} O_2 + 2AH_2$$

Nessa reação, A é uma espécie de aceptora de prótons que varia com o tipo de organismo fotossintético.

A Adequação do Ambiente Aquoso para os Organismos Vivos

Os organismos têm-se adaptado efetivamente aos seus ambientes aquosos e desenvolvido maneiras de explorar as propriedades incomuns da água. O alto calor específico da água (a energia calorífica necessária para aumentar de 1°C a temperatura de um grama de água) é útil para as células e os organismos porque possibilita que a água atue como um "tampão de calor", permitindo que a temperatura de um organismo fique relativamente constante quando a temperatura do ar flutua e quando o calor é gerado como um produto colateral do metabolismo. Além disso, alguns vertebrados exploram o alto valor do calor de vaporização da água (Tabela 4-1), usando (portanto, perdendo) o excesso de calor corporal para evaporar o suor. O alto grau de coesão interna da água líquida, devido às pontes de hidrogênio, é explorado pelas plantas como um meio de transportar nutrientes dissolvidos das raízes até as folhas, durante o processo de transpiração. Até mesmo a densidade do gelo, menor que a da água líquida, tem conseqüências biológicas importantes nos ciclos vitais dos organismos aquáticos. Lagoas congelam-se da superfície para o fundo, e a camada de gelo na superfície isola a água abaixo do gelo do ar muito mais frio, impedindo que as lagoas (e os organismos que nela vivem) se congelem. De fundamental importância para todos os organismos vivos é o fato de que muitas propriedades físicas e biológicas das macromoléculas celulares, particularmente das proteínas e dos ácidos nucléicos, derivam da sua interação com as moléculas de água do meio ambiente circunvizinho. A influência da água no curso da evolução biológica tem sido intensa e determinante. Se formas de vida evoluíram em alguma outra parte do universo, é improvável que se assemelhem às da Terra, a menos que sua origem extraterrena também seja um local onde exista uma grande quantidade de água líquida.

O ambiente aquoso abriga miríades de espécies. Corais, esponjas, briozoários e algas competem pelo espaço disponível nos recifes das costas das Ilhas Filipinas.

Resumo

A água é o composto mais abundante nos organismos vivos. Os seus pontos de congelamento, ebulição e calor de vaporização relativamente altos são o resultado de atrações intermoleculares fortes na forma de pontes de hidrogênio entre moléculas de água adjacentes. A água líquida tem um considerável ordenamento de curta distância e consiste de agregados de curta duração, ligados por pontes de hidrogênio. A polaridade e a capacidade de formar pontes de hidrogênio fazem dela um potente solvente para muitos compostos iônicos e outras moléculas polares. Compostos não-polares, incluindo os gases CO_2, O_2 e N_2, são pouco solúveis na água.

Quatro tipos de interações fracas ocorrem dentro e entre as biomoléculas em um solvente aquoso: interações iônicas, hidrofóbicas e de van der Waals e pontes de hidrogênio. Embora individualmente fracas, coletivamente criam fortes forças estabilizadoras para as proteínas, os ácidos nucléicos e as membranas. Interações fracas (não-covalentes) também estão no cerne da catálise enzimática, no funcionamento dos anticorpos e nas interações receptor-ligante.

Quando soluções aquosas de diferentes concentrações são separadas por uma membrana semipermeável, a água atravessa a membrana na direção da menor concentração de água. Esse movimento da água através da membrana semipermeável (osmose) cria uma pressão osmótica. Para células em soluções hipotônicas, a entrada de água através da membrana plasmática causa intumescência, produzindo uma pressão de turgor ou lise osmótica, se a célula não estiver protegida por uma parede rígida. As propriedades coligativas (pontos de fusão e ebulição, pressão de vapor e pressão osmótica) dependem do número de partículas dissolvidas (íons, moléculas), e não das suas massas moleculares ou propriedades químicas.

A água ioniza-se muito pouco para formar íons H^+ e OH^-. O rápido "salto" de prótons ao longo de uma seqüência de moléculas de água ligadas por pontes de hidrogênio dá a aparência de uma difusão de prótons na água, excepcionalmente rápida. Em soluções aquosas diluídas, as concentrações dos íons H^+ e OH^- são inversamente relacionadas pela expressão $K_w = [H^+][OH^-] = 1 \times 10^{-14}M^2$ (a 25°C). A concentração do íon hidrogênio dos sistemas biológicos é geralmente expressa em termos de pH, definido como $pH = -\log [H^+]$.

Os ácidos são definidos como doadores de prótons, e as bases, como aceptores de prótons. Um par ácido-base conjugado consiste de um doador de prótons (HA) e seu correspondente aceptor de prótons (A^-). A tendência de um ácido HA doar prótons é expressa pela sua constante de dissociação ($K_a = [H^+][A^-]/[HA]$) ou pela função pK_a, definida como $-\log K_a$, que pode ser determinada por meio de uma curva de titulação. O pH de uma solução de ácido fraco está relacionado quantitativamente com o seu pK_a e com a razão das concentrações de suas espécies doadora e aceptora de prótons por meio da equação de Henderson-Hasselbalch.

Um par ácido-base conjugado pode agir como um tampão e resistir às variações de pH; sua capacidade para fazer isso é maior em um pH numericamente igual ao seu pK_a. Muitos tipos de biomoléculas têm grupos funcionais que contribuem para a capacidade tamponante. Proteínas, H_2CO_3/HCO_3^- e $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ são sistemas-tampão biologicamente importantes. A atividade catalítica das enzimas é fortemente influenciada pelo pH, e o ambiente onde elas funcionam devem ser tamponados contra grandes variações de pH.

A água não é apenas o solvente no qual ocorrem as reações metabólicas; ela participa diretamente em muitos processos bioquímicos, incluindo as reações de hidrólise e de condensação. As propriedades físicas e químicas da água são de importância central para a estrutura e a função biológicas. A evolução da vida na Terra foi influenciada em grande parte pelas suas propriedades de solvente e reagente.

Leitura Adicional

Geral

Denny MW. (1993) *Air and Water: The Biology and Physics of Life's Media*, Princeton University, Princeton, NJ.
Uma surpreendente investigação sobre a relevância biológica das propriedades da água.

Eisenberg D & Kauzmann W. (1969) *The Structure and Properties of Water*, Oxford University Press, New York.
Um estudo avançado da físico-química da água.

Franks F & Mathias SF (eds). (1982) *Biophysics of Water*, John Wiley & Sons, Inc., New York.
Uma extensa coleção de artigos sobre a estrutura da água pura e do citoplasma.

Gerstein M & Levitt M. (1998) Simulating water and the molecules of life. *Sci. Am.* **279** (November), 100-105.
Uma descrição bem ilustrada do uso da simulação em computador para estudar a associação biologicamente importante da água com proteínas e ácidos nucléicos.

Gronenborn A & Clore M. (1997) Water in and around proteins. *The Biochemist* **19** (3), 18-21.
Uma breve discussão sobre água ligada à proteína, detectada por cristalografia e RNM.

Kornblatt J & Kornblatt J. (1997) The role of water in recognition and catalysis by enzymes. *The Biochemist* **19** (3), 14-17.
Um breve e útil sumário dos métodos nos quais a água ligada influencia a estrutura e a atividade das proteínas.

Kuntz ID & Zipp A. (1977) Water in biological systems. *N. Engl. J. Med.* **297**, 262-266.
Uma breve revisão do estado físico da água, do citosol e de suas interações com biomoléculas dissolvidas.

Ladburry J. (1996) Just add water! The effect of water on the specificity of protein-ligand binding sites and its potential application to drug design. *Chem. Biol.* **3**, 973-980.

Stillinger FH. (1980) Water revisited. *Science* **209**, 451-457.
Uma breve revisão da estrutura física da água, incluindo a importância das pontes de hidrogênio e a natureza da interação hidrofóbica.

Westhof E (ed). (1993) *Water and Biological Macromolecules*, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL.
Catorze capítulos, cada um de diferente autor, cobrindo (em nível avançado) a estrutura da água e suas interações com proteínas, ácidos nucléicos, polissacarídeos e lipídios.

Wiggins PM. (1990) Role of water in some biological processes. *Microbiol. Rev.* **54**, 432-449.
Uma revisão do papel da água na biologia, incluindo discussão da estrutura física da água líquida, sua interação com as biomoléculas e o estado da água nas células vivas.

Interações fracas nos sistemas aquosos

Fersht AR. (1987) The hydrogen bond in molecular recognition. *Trends Biochem. Sci.* **12**, 301-304.
Uma discussão quantitativa, clara e breve da contribuição das pontes de hidrogênio no reconhecimento molecular e na catálise enzimática.

Frieden E. (1975) Non-covalent interactions: key to biological flexibility and specificity. *J. Chem. Educ.* **52**, 754-761.
Revisão dos quatro tipos de interações que estabilizam as macromoléculas e conferem especificidade biológica, com exemplos claros.

Jeffrey GA. (1997) *An Introduction to Hydrogen Bonding*, Oxford University Press, New York.
Uma discussão detalhada e avançada da estrutura e propriedades das pontes de hidrogênio, incluindo aquelas em água e biomoléculas.

Schwabe JWR. (1997) The role of water in protein-DNA interactions. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **7**, 126-134.
Analisa o importante papel da água na especificidade e afinidade das interações proteína-DNA.

Tanford C. (1978) The hydrophobic effect and the organization of living matter. *Science* **200**, 1012-1018.
Uma revisão das bases química e energética das interações hidrofóbicas entre biomoléculas em soluções aquosas.

Ácidos fracos, bases fracas e tampões: problemas para praticar

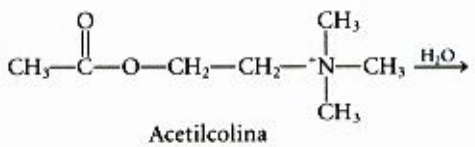
Segel IH. (1976) *Biochemical Calculations*, 2nd edn, John Wiley & Sons, Inc., New York.

Problemas

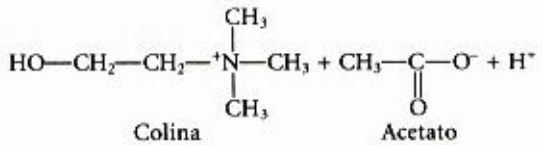
1. Vinagre artificial. Uma maneira de fabricar vinagre (*não* a preferível) é preparar uma solução de ácido acético, o único componente ácido do vinagre, no pH apropriado (veja Fig. 4-13) e adicionar agentes flavorizantes adequados. O ácido acético (M_r 60) é um líquido a 25°C com densidade 1,049g/mL. Calcule o volume que deve ser adicionado à água destilada para fazer 1L de vinagre artificial (veja Fig. 4-14).

2. Acidez do HCl gástrico. Em um laboratório hospitalar, uma amostra de 10mL de suco gástrico, obtida várias horas após uma refeição, foi titulada com NaOH 0,1M até a neutralidade. Foram gastos 7,2mL de NaOH. Como o estômago do paciente não continha alimentos sólidos ou líquidos, pode-se considerar que não havia nenhum tampão presente na titulação. Qual é o pH do suco gástrico?

3. Medida dos níveis de acetilcolina por meio de variações do pH. A concentração de acetilcolina (um neurotransmissor) em uma amostra pode ser determinada pelas variações no pH que acompanham a sua hidrólise. Quando a amostra é incubada com a enzima acetilcolinesterase, a acetilcolina é quantitativamente convertida em colina e ácido acético que se dissocia liberando acetato e íon H^+:



Acetilcolina



Colina Acetato

Em uma análise típica, 15mL de uma solução aquosa contendo uma quantidade desconhecida de acetilcolina tinha pH de 7,65. Quando incubada com a acetilcolinesterase, o pH da solução diminuiu para 6,87. Considerando que não havia nenhum tampão na mistura de ensaio, determine o número de moles de acetilcolina nos 15mL da solução desconhecida.

4. Balanço osmótico em um sapo marinho. O sapo comedor de caranguejo, *Rana cancrivora*, do sudoeste da Ásia, nasce e cresce em água doce, mas procura por seu alimento em mangues pantanosos costeiros (que contêm 80% de água salgada). Conseqüentemente, quando o sapo se move da água doce para a água do mar, experimenta uma grande mudança na osmolaridade de seu ambiente (de hipotônico para hipertônico).

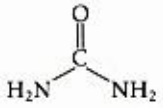
(a) A água do mar a 80% contém NaCl 460mM, KCl 10mM, $CaCl_2$ 10mM e $MgCl_2$ 50mM. Quais são as concentrações das várias espécies iônicas nessa água do mar? Considerando-se que esses sais representam praticamente quase todos os solutos na água do mar, qual é a osmolaridade dessa água?

(b) A tabela a seguir mostra a concentração citoplasmática dos íons no *Rana cancrivora*. Ignorando a presença de proteínas, aminoácidos, ácidos nucléicos e outros pequenos metabólitos dissolvidos, qual é a osmolaridade das células do sapo, baseando-se somente nas concentrações iônicas dadas na tabela?

	Na^+ (mM)	K^+ (mM)	Cl^- (mM)	Ca^{2+} (mM)	Mg^{2+} (mM)
Rana cancrivora	122	10	100	2	1

(c) Similarmente aos outros sapos, o sapo comedor de caranguejo pode trocar gases através da sua pele permeável, o que permite que ele fique sob a água por longos períodos, sem respirar. Como a alta permeabilidade da pele do sapo afeta suas células quando ele se move da água doce para a água do mar?

(d) O sapo comedor de caranguejo usa dois mecanismos para manter suas células em balanço osmótico com seu meio ambiente. Primeiro, permite que as concentrações de Na^+ e Cl^- aumentem vagarosamente, à medida que os íons difundem através de seus gradientes de concentração. Segundo, tal como muitos elasmobrânquios (tubarões), ele retém a uréia, um produto de excreção, em suas células. A adição de NaCl e uréia aumenta a osmolaridade do citosol até um valor aproximadamente igual ao do meio ambiente.



Uréia (CH_4N_2O)

Considerando que o volume de água em um sapo típico é 100mL, quantos gramas de NaCl (fórmula grama, (FG) 58,44) o sapo necessita para deixar seus tecidos isotônicos em relação à água do mar?

(e) Quantos gramas de uréia (FG 60) ele deve reter para realizar a mesma coisa?

5. Propriedades de um tampão. O aminoácido glicina é freqüentemente empregado como o principal ingrediente de um tampão em experimentos bioquímicos. O grupo amino da glicina, que possui um pK_a de 9,6, pode existir tanto na forma protonada ($—NH_3^+$) como na forma de base livre ($—NH_2$) devido ao equilíbrio reversível:

$$R—NH_3^+ \rightleftharpoons R—NH_2 + H^+$$

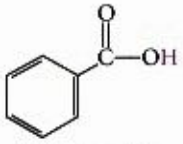
(a) Em que intervalo de pH a glicina pode ser empregada como um tampão efetivo devido a seu grupo amino?

(b) Em uma solução de glicina 0,1M e em pH 9, que fração de glicina possui seu grupamento amino na forma $—NH_3^+$?

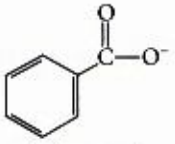
(c) Que volume de KOH 5M deve ser adicionado a 1L de glicina 0,1M em pH 9, para trazer o pH de volta para o valor 10?

(d) Quando 99% de glicina na forma de $—NH_3^+$, qual é a relação numérica entre o pH da solução e o pK_a do grupo amino?

6. O efeito do pH na solubilidade. A sua natureza polar e a propriedade de formar pontes de hidrogênio tornam a água um excelente solvente para as espécies iônicas (carregadas) dissolvidas. Contrariamente, as moléculas orgânicas não-ionizadas e não-polares, como o benzeno, são relativamente insolúveis em água. Em princípio, a solubilidade de todos os ácidos e bases orgânicos em água pode ser aumentada pela conversão das moléculas em espécies carregadas. Por exemplo, a solubilidade do ácido benzóico em água é pequena. A adição de bicarbonato de sódio eleva o pH da solução e o ácido benzóico dissocia-se formando o íon benzoato, que é muito solúvel em água.

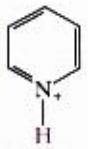


Ácido benzóico
$pK_a \approx 5$



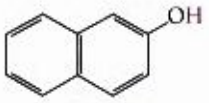
Íon benzoato

Os compostos mostrados a seguir são mais solúveis em solução aquosa de NaOH 0,1M ou de HCl 0,1M? (Os prótons dissociáveis são mostrados em vermelho.)



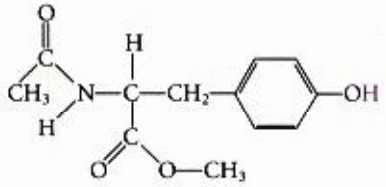
Íon piridina
$pK_a \approx 5$

(a)



β-naftol
$pK_a \approx 10$

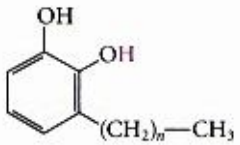
(b)



N-acetiltirosina metil éster
$pK_a \approx 10$

(c)

7. Tratamento do exantema provocado pela hera venenosa. Os catecóis substituídos que apresentam longas cadeias alquílicas são os componentes da substância irritante produzida pela hera venenosa e pelo carvalho venenoso, e, quando em contato com a pele, produzem um exantema característico.



$pK_a \approx 8$

Se você fosse exposto à hera venenosa, qual dos tratamentos a seguir você aplicaria à área afetada? Justifique sua escolha.

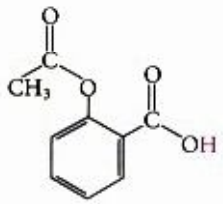
(a) Lavar a área com água fria.

(b) Lavar a área com vinagre diluído ou suco de limão.

(c) Lavar a área com água e sabão.

(d) Lavar a área com água, sabão e bicarbonato de sódio.

8. O pH e a absorção de drogas. A aspirina é um ácido fraco cujo pK_a é 3,5.



Ela é absorvida pelo sangue através das células que cobrem a superfície do estômago e intestino delgado. A absorção requer a passagem através da membrana plasmática e a sua velocidade é determinada pela polaridade da molécula: as moléculas carregadas e altamente polares atravessam a membrana vagarosamente, enquanto as hidrofóbicas neutras atravessam-na rapidamente. O pH do suco gástrico é da ordem de 1,5 e o pH do intestino delgado é cerca de 6. A aspirina é absorvida pela corrente sangüínea a partir do estômago ou do intestino delgado? Justifique claramente sua resposta.

9. Preparo de uma solução-tampão padrão para a calibração de um pHmetro. O elétrodo de vidro usado nos pHmetros comerciais fornece uma resposta elétrica proporcional à concentração do íons hidrogênio. Para converter essas respostas em pH, os elétrodos de vidro devem ser calibrados com uma solução-tampão padrão cuja concentração de H^+ é conhecida. Determine a massa, em gramas, do fosfato diácido de sódio (NaH_2PO_4; H_2O; FG 138,01) e a do fosfato monoácido de sódio (Na_2HPO_4; FG 141,98) necessária para preparar 1L de um tampão-padrão de pH 7, com uma concentração total de fosfato de 0,1M (veja Fig. 4-14).

10. Controle do pH do sangue pela velocidade da respiração

(a) A pressão parcial do CO_2 nos pulmões pode variar rapidamente por meio da velocidade e da profundidade da respiração. Por exemplo, uma providência comum para aliviar soluços é aumentar a concentração de CO_2 nos pulmões. Isso pode ser conseguido pela suspensão da respiração ou por meio de uma respiração muito vagarosa e superficial (hipoventilação) ou respirando dentro de um saco de papel. Em tais condições, a pressão parcial do CO_2 no espaço aéreo dos pulmões aumenta acima do normal. Explique qualitativamente o efeito desses procedimentos no pH sangüíneo.

(b) Uma prática comum dos atletas especialistas em corridas de curta distância é respirar rápida e profundamente (hiperventilação) por cerca de meio minuto para remover o CO_2 dos pulmões, imediatamente antes de uma arremetida de 100m. O pH do sangue pode subir até 7,6. Explique por que o pH do sangue sobe.

(c) Durante uma corrida de curta distância, os músculos produzem uma grande quantidade de ácido láctico ($CH_3CH(OH)COOH$, $K_a = 1{,}38 \times 10^{-4}$) a partir de seus estoques de glicose. Em vista desse fato, por que uma hiperventilação pode ser útil antes da corrida?

Página original em branco